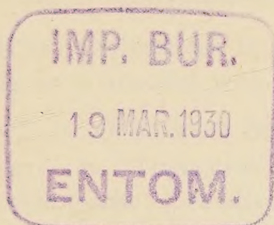
MEDEDEELINGEN
VAN DE
LANDBOUWHOOGESCHOOL
EN VAN DE DAARAAN VERBONDEN INSTITUTEN

ONDER REDACTIE VAN DEN
SENAAT DEZER INRICHTING

DEEL 33



H. VEENMAN & ZONEN — WAGENINGEN — 1929

INHOUD.

TOEVOEGING VAN LITERATUUROPGAVEN

in Persoonlijke Opvattingen...... Een aantal Nomenclatuurgevallen van I Coniferen (meded. L.H.S. dl. 30 verh. 2) en II Loofhoutgewassen (meded. L.H.S. dl. 32 verh. 5), door

Dr. J. Valckenier Suringar.

I. p. 13 Nr. 6, r. 1	*Pinus inops* Bong. l. c. (cf. nr. 21).
p. 24 Nr. 10 r. 1	*Larix leptolepis* Gordon Pinetum 1858, p. 128; *Abies* — S.u.Z. Flor. Jap. 1842, p. 12 T. 105.
p. 25 r. 4	*Larix Kaempferi* Sarg. Silva XII 1898, p. 2, noot.
p. 30 Nr. 13 r. 3	*Abies Jezoensis* S. & Z. Flor. jap. II 1842, p. 19, T. 110.
p. 31 r. 2	*Picea ajanensis* Trautv. & Mey Flor. Ochot. in Middend. Reise 1856, p. 87, T. 22—24.
Nr. 14 r. 7	*Picea bicolor* Mayr Abietineae Jap. Reiches 1890 p. 49, T. III.
p. 32 Nr. 15 r. 3	*Picea Smithiana* Boiss. Flor. Orient. V 1884, p. 700.
p. 38 Nr. 17 r. 1	*Picea rubra* en *nigra* Lk Linnaea XV 1841, p. 521.
p. 39 Nr. 17 r. 3	*Pinus americana* Gaertn. de Fruct. et Sem. II 1791, p. 60.
p. 42 Nr. 19 r. 1	*Picea canadensis* B.S.P. Prel. Cat. 1888.
r. 2	*Picea alba* Lk in Linnaea XV 1841 p. 519.
p. 48 Nr. 20 r. 14	*Picea sitchensis* Carr. Conif. 1855, p. 260.
p. 51 r. 3, 4 v.o.	*Tsuga Albertiana* en *Pattoniana* Sénécl. Conif. 1867, p. 18, 21.
p. 52 r. 5 v.o.	*Pseudotsuga mucronata* Südw. ex Holzinger in Contr. U. St. Nat. Herb. III 4, 1895, p. 265.
r. 1 v.o.	*Ps. ts. taxifolia* Britt. Transact. N. Y. Ac. Sc. VIII 1889, p. 74.
p. 71 l. al. { r. 1	*Abies Mariana* Mill. Dict. 1768.
p. 71 l. al. { r. 3, 4	*Pinus nigra* Ait. Hort. Kew III 1789 p. 370, *Pinus nigra* Lk Abh. Ak. Berl. 1827(30) p. 173.

II. p. 5 r. 18 v.o.	Link in Abh. Berl. Ak. f. Wiss. 1827 p. 179.
p. 5 r. 11 v.o.	*Picea excelsa* Lk Linnaea XV 1841 p. 517.
r. 2 v.o.	*Abies Picea* Lindl. Penny Cycl. I 1833, p. 29.
r. 1 v.o.	*Picea Abies* Karsten Pharm. Med. bot. 1881, p. 324.
p. 16 r. 12	*Populus deltoidea* Marsh. Arb. Am. 1785, p. 106.
p. 27 noot, r. 3	*Quercus digitata* Südw. Gard. & For. 1892 V, p. 98.
r. 5	*Q. falcata* Mich. Hist. des Chênes de l'Am. 1801 nr. 16, T. 28.
p. 32 Nr. 4 r. 10	*Alnus glutinosa* Gaertn. Fruct. et Sem. II, p. 54, T. 9 f. 2.
p. 35 Nr. 6 r. 3	*Ulmus campestris* etc. Miller Dict. VIII 1768.
p. 36 r. 17	*Ulmus foliacea* Gilibert Exerc. Phyt. II 1792, p. 395.
r. 23	*U. nitens* Mönch Meth. 1794, p. 333.
p. 45 r. 9 v.o.	*Magnolia hypoleuca* S. & Z. Abh. Bayr. Akad. Wiss., Math.-phys. Kl. IV 2, 1846, p. 187.
p. 47 r. 1 v.o.	*Tilia parvifolia* en *grandifolia* Ehrhart Beiträge V 1790. p. 158, 9.
p. 51 Nr. 11*b* r. 11	*Vitis Coignetiae* Pull. ex Planchon in Journ. Vigne Améric. 1883, p. 186.
p. 53 r. 6	*Exochorda racemosa* Rehd. in Sarg. Pl. Wils. I 1913 p. 456.
r. 7	*E. grandiflora* Lindl. Gard. Chron. 1858, p. 925.
p. 58 Nr. 17 r. 2	*Hydrangea opuloides* K. Koch Dendr. I. 1869, p. 353.
p. 59 Nr. 18 r. 1	*Rhodotypus Kerrioides* S. & Z. Fl. jap. I 1835, p. 187, T. 99.
r. 2	*Rh. scandens* Mak. Bot. Mag. Tokyo XXVII 1913, p. 126.
r. 5	Sargent's Pl. Wilsonianae.
p. 64 r. 20	*M. rivularis* Roem. Syn. Ros. 1847, p. 215.
r. 21	*Malus fusca* Schneider Laubh. I 1906, p. 44.
p. 65 Nr. 21 r. 2	*Chaenomeles japonica* Lindl. Transact. Linn. Soc. XIII 1822, p. 97.
r. 3	*Ch. Maulei* Schn. Laubh. I 1906, p. 731.
r. 16	*Pirus japonica* var. *alpina* Max. Bull. Ac. Pét. XIX 1874, p. 168.
p. 67 Nr. 22 r. 7	*Crataegus berberifolia* Torr. & Gray Fl. N. Am. I, p. 469.
r. 11	*C. Lavallei* Lav. Arb. et Frut. Segrez. 1885, p. 21, T. 7.
p. 68 Nr. 23*a*, r. 7	Seemann in Journ. Bot. VI 1868 p. 134.
p. 69 Nr. 23*b* r. 6	*Acanthopanax pentaphylla* Marchal Bull. Soc. Bot. Belge XX 2 1881, p. 79.

II p. 75 Nr. 26 r. 9	*Azalea calendulacea* MICH. Fl. bor. Am. I 1803, p. 151.
r. 10	*Rhododendrum calendulaceum* TORR. Fl. N. a. M. Un. St. I 1824, p. 425.
p. 78 r. 2	*Azalea occidentalis* TORR. & GRAY Pac. R. Rep. II 1857, p. 116.
r. 3	*Azalea calendulacea* HOOK. & ARN. Bot. Beech. Voy. 1841, p. 362.
p. 83 Nr. 30 r. 3	*Symphoricarpus albus* BLAKE Rhodora XVI 1914, p. 118.
r. 5	*S. racemosus* MICH. Fl. Am. bor. I 1803, p. 107.

p. 84 Toevoeging Nr. 1 r. 3 *Malus diversifolia* ROEMER Syn. Ros. 1847, p. 215.

I

THE NATURE AND RELATIONS OF THE INTRACELLULAR INCLUSIONS PRESENT IN THE MOSAIC OF TOBACCO

(WITH AN APPENDIX AND 2 PLATES)

BY

V. LIKHITÉ

II

CYTOLOGICAL ASPECTS OF THE VIRUS DISEASES IN PLANTS

BY

V. LIKHITÉ
WAGENINGEN (HOLLAND).



H. VEENMAN EN ZONEN — WAGENINGEN — 1929.

'S-GRAVENHAGE — ALGEMEENE LANDSDRUKKERIJ — 1929

I.

The Nature and Relations of the Intracellular Inclusions present in the Mosaic of Tobacco.

by

V. Likhité.

The association of amoeboid bodies with the tobacco-mosaic is now too well known to require any explanation. After their first discovery by IWANOWSKI (1903) their presence in the diseased plants was confirmed by DELACROIX (1906), DICKSON (1922), KUNKEL (1922), PALM (1922), RAWLINS and JOHNSON (1925), GOLDSTEIN (1924—1926), SMITH, F. F. (1926), HOGGAN (1927), and KLEBAHN (1926). Along with these bodies certain crystal inclusions are also present in the diseased cells of the plant. The nature of all these intracellular inclusions has remained to be solved for the greater part. The present work was undertaken to clear up this question to a certain extent.

METHOD.

It was thought necessary to avoid the use of certain fixing ingredients such as alcohol, ether, acetic acid &c., which have proved to be fatal to these inclusions. The Kolatchev method was found to be extremely suitable for the purpose. Small pieces of healthy and diseased tobacco stem and of certain other plants such as Petunia, Tomato, Hyoscyamus and Solanum nigrum, on which tobacco mosaic was transferred by grafting were fixed in a solution of equal parts of 6 % potassium bichromate, 1 % chromic acid, and 2 % osmic acid for from 24 to 48 hours. They were then washed for about twelve hours in running water, and being passed through distilled water several times, were put for a week at 30° C. in 2 % osmic acid. Being again washed for about twelve hours in running water, they were dehydrated and embedded in paraffin as usual. Sections were cut from 8—10 μ thick. Mounts were made directly without any further staining.

In this way the protoplasm and nuclei were stained uniform pale yellow, the crystalloid material deep yellow and the vacuolate bodies dark. The inclusions were found to exist only in the affected plants.

THE VACUOLATE BODIES.

GOLDSTEIN (7) has distinguished these bodies as x-bodies. By other workers they have been known as vacuolate, or amoeboid bodies. Most

of the observations made so far were limited to the leaves or epidermal tissue of the diseased plants. With modifications in their form they can be easily found in any of the tissues of the diseased plant. They were found in all the six types of tobacco mosaic distinguished by GOLDSTEIN (8); and though no special mention of them is made in the sixth, the irregular narrow-nervisequum type, they seem to be present in it. In her ,,pale, definitely blotched type" (the fifth) ,,these bodies were found to be present in the companion cells, phloem and xylem parenchyma cells of the small anastomosing veins of the leaf". The only exception made is that of cells between two vascular bundles. KLEBAHN (13) did not find them in the older cells of the epidermis, mesophyll and the vascular tissue, neither in certain mosaic tobacco plants. The only explanation that can be offered is that the mosaic on these plants might have been of some other type. My observations have led me to the conclusion that they can be found in any diseased part of the plant.

These vacuolate bodies can be easily seen under living conditions (7). They are hyaline in nature, granular in structure, formed of a denser protoplasmalike substance, rounded or slightly oval, more generally pear-shaped and very susceptible to nuclear dyes. A confusion with a degenerated form of nucleus is very likely to occur (12). Under fixed and stained conditions they are very easy to be distinguished from the nucleus especially by their vacuolar structure. They are deeply stained by the osmic acid and contain numerous vacuoles of different sizes within them. The whole body is stained homogeneously blueish dark by the osmic acid with the exception of the vacuoles. Sometimes a granular substance lightly stained is found to be present in these vacuoles.

The usual size of these bodies (figs. 13, 19, pl. 2) found in the inner tissue, becomes smaller and smaller towards the peripheral tissue of the epiderm, hairs &c. and they appear finally as minute, deeply stained globules (fig. 1, pl. 1). Same gradation in form was observed by GOLDSTEIN (7). PALM (34) has supposed these extremely small bodies to be the causal agency. I have found them present in the packets of crystals (fig. 2, pl. 1). They are figured in the striated crystals by KLEBAHN (13) and named ,,miculae". In a little larger form they have one vacuole (fig. 1c, 3, pl. 1) in the granular substance. Their substance is not of the same nature as the plasm of the host as it proves to be greatly osmiophile. In this respect these bodies

approach the mitochondria or certain other cell constituents, known to be greatly osmiophile in their nature.

They have an autonomous movement. Blunt pseudopodia are often thrown out by the smaller bodies and when this is the case the vacuole may be extended into it (fig. 3a, 6, pl. 1). In forms of ordinary size, more than one pseudopodium of fine threadlike nature are given out (fig. 4a, b, 5, pl. 1). GOLDSTEIN (7, 8) has observed the blunt pseudopodia and attributes the movement of these bodies partly to them, and partly to the currant of the protoplasm. SMITH (41) signifies it only by the protoplasmic currant. A fish in the currant of water may be carried by the force of medium in which it lies, but to deny its autonomous movement would be rather hazardous. The presence of the pseudopodia finally settles this question in favour of the autonomous movement of these bodies. It will be difficult to see the movement of these pseudopodia under living condition as they are of a fine nature. Occasionally a whole body may be seen to be prolonging itself into a long pseudopodiumlike protuberance with more vacuoles and granular structure in the front end (fig. 6, pl. 1). The corpuscles can render themselves flexible enough to permeate through the cellwall. In figure 7, pl. 1 can be seen a body thus traversing through the cellmembrane; instances of such sort are very common to be met with.

The vacuolate nature of these bodies is unanimously settled. Commonly one but often several vacuoles, giving a foamlike appearance to the body are present (8). I have never observed only one vacuole except in smaller forms; the increase in size is invariably accompanied by the addition of vacuoles, which become so numerous that they can hardly be counted. I have observed them on the periphery of these bodies (fig. 10, pl. 1) contrary to the remarks of GOLDSTEIN. In a granular, slightly stained form, there sometimes occurs a dark lining membrane around these vacuoles (fig. 8a, b, pl. 1) as has already been observed (8). A limiting membrane is also present and can only be rendered visible when the body being in a degenerating condition (fig. 9, pl. 1) is lightly stained. SMITH (41) and GOLDSTEIN (8), have seen it, the body being under plasmolytic conditions during the observations of the former.

The average dimensions of these bodies are 6 $\times$ 4 μ which corresponds exactly with those found by KLEBAHN (13). The largest

body found measured 10 $\times$ 7 μ (fig. 10, pl. 1). A body of almost the same size curved in the middle is shown in figure 11, (pl. 1).

In the woodvessels these bodies have their vacuoles much enlarged and these vacuoles then occupy most of their part. Their component structure becomes so thin that here only they have more resemblance to a foamy mass (fig. 12, pl. 1).

A cluster of these bodies is seen surrounding the nucleus from time to time (fig. 13, pl. 2) and they even seem to pass over this apparent obstacle in their way as can be made out from their traces left; but no influence of degenerating nature can ever be found exerted by them on the nucleus. Nor were they strictly in association with the nucleus, an observation contrary to that of RAWLINS and JOHNSON (38). My observations here coincide with those of GOLDSTEIN (8) and SMITH (41). It may be that the nucleus may show a temporary distortion on account of the pressure of an adjoining body; but it can replace itself as soon as this foreign body is removed from it.

In their movements these bodies may leave behind them a certain part of their plasma (fig. 14, pl. 1, fig. 15, pl. 2). When this is the case the detached portion of the plasma seems to regenerate itself into a new body. Figures 16a and b, represent different sorts of fissions in these bodies. Regeneration through fission, therefore, seems also to take place. Division by constriction is very common and the bridging plasma thread joining the two individuals may remain attached for a long time (fig. 18 a, b, pl. 2). Figure 18a shows a third animalcule developing from the middle of such a linking plasma. GOLDSTEIN (8) gives a hardly convincing figure (N°. 7) of fission in her plate 29. SMITH (41) never seems to have observed it.

Conjugation was observed to be common. Two bodies approach each other (fig. 19a, b, pl. 2) and finally fuse together (fig. 20a, b, pl. 2). A rather abnormal mode of fusion is shown in figure 21 (pl. 2). To what effect their conjugation leads, I was unable to decide; but sporulation may seem most likely to occur from it. Figures 22a and b (pl. 2) show small granules formed in a body. They seem to be also formed in vacuoles (8). In the traces of the movement they are often seen to be left behind (fig. 15, pl. 2). It is very likely that these granules are spread all over the epidermal tissue. In figure 17 (pl. 2) a fission can be said to be occurring in an encysted form. These

encystments are found occasionally and the new forms may be said to be regenerating from their pieces through fissions.

Every part of the bodyplasm or the granules such formed can give rise to a new animalcule under favourable conditions, and infection is very easy to occur.

THE CRYSTALS.

In their movements these bodies secrete certain substances (fig. 23a, b, pl. 2). Under living conditions I have occasionally seen a body in connection with small acicular crystals. Contrary to the observations of RAWLINS and JOHNSON (38) in very young epidermal tissue of the leaf, showing pale patches, the amoeboid bodies appeared prior to the formations of any crystalloid substances. The most probable chance is, therefore, that these secretions, first taking acicular form, go finally to construct the polyhedral plates, presenting striated nature under a different vision. In very old cells again these crystals break up and small fine fibrils are formed joining in a crescent shaped crystal (fig. 2, pl. 1). All these crystals can seperate themselves into their fundamental acicular shape if acted upon by certain acid or basic compounds (41). It is clear, therefore, that whatever their form may be the component substance of all the crystals is the same.

These crystals are so closely associated with this type of Tobacco mosaic that in fact it would not be out of place here to suggest them as the criterion for this disease (provisionally termed Tobacco Virus 1, after JOHNSON).

In my experiments, Tobacco mosaic was transferred by grafts on *Lycopersicon esculentum, Petunia hybrida, Solanum nigrum* and *Hyoscyamus niger*. When distinct external signs of shrinking, islet formations &c. had appeared on the leaves a cytological examination of the epidermal tissue and hairs exhibited the presence of these crystals. In the summer of 1928 a few tubers of potato variety Rural New Yorker infected with Tobacco mosaic and sent by Dr. K. M. FERNOW of the Cornell University, Ithaca, N.Y. were growing in the experimental fields of this laboratory. The shoots from these tubers were extremely dwarfed (not higher than a few inches); the leaves were very small and showed islet formation and shrinking. All the types of the crystals were found to be present in the affected cells.

Some of the types of these crystals (polyhedral and striped) have been observed in Tomato, Petunia, Datura, Physalis, Capsicum and several other Solanaceous hosts (5, 8, 10, 13).

The fibres of the crescent shaped crystals were discovered by GOLDSTEIN (8) and studied in detail by KLEBAHN (13). Both of them are unanimous in declairing their presence in old cells from which other inclusions have disappeared. The last or crescent shape of these crystals is found only in old, yellowed leaves. But it is not rare to find all these sorts of crystals in the same cell of an approximately young age.

The nature of these crystals had remained a mystery for a long time. IWANOWSKI (12) and DICKSON (5) have called them waxy plates and they were explained (after EWART) as the product of chlorophyll degeneration combined with the changed plastid protoplasm (5). DICKSON further remarks that there is a great reduction in the amount of protoplasm, leaving a larger central vacuole than usual after the appearance of the platelike crystals. RAWLINS and JOHNSON (38) find them always in contact with the nucleus. On account of this close connection between the two they were supposed to be the product of the diseased cell or the effect of the causal agent on the cell plasma.

My observations have convinced me that they are secreted by the vacuolate bodies. Much light has been thrown on their chemical nature recently by KLEBAHN (13) and consequently they prove to be of albuminoid material. Crystals of the same nature in spindle form have been also found in mosaic and intercostal mosaic of potato and have been proposed to be taken as particular signs of these diseases (13). Such crystals in striated form have already been figured in *Cecropia peltata* and *Prosimum macrocarpum* and the crescent shaped ones have been found in Epiphyllum and Opuntia species (31). Their relation to mosaic diseases if any in these plants has not yet been ascertained.

I have tried the following tests for the reactions and my results confirm those arrived at by KLEBAHN (13).

Fresh and fixed material was used. Fixed material was prepared in absolute alcohol preferably mixed with 5 % tartaric acid, which dissolves oily, resinous and other material, and helps to coagulate the albuminoid one. Formol-acetic-alcohol was also used. The advantage of this latter is that it renders the material soft, so that the epidermis can be easily scraped out. Material put in alcohol-tartaric acid is extremely brittle.

If the epidermis of the fresh material is first fixed by dropping into absolute alcohol saturated with picric acid for some hours, then washed in absolute alcohol, put into saturated solution of eosine in alcohol, for a few minutes, again washed in absolute alcohol and at once mounted with a drop of Canada balsm, the crystalloid substances take a deep red colour.

A blue stain is obtained by these crystals if the sections are mordanced for an hour in acetic-potassium-ferrocyanide solution (3 gr. potassium ferrocyanide, 10 c.c. acetic acid, 80 c.c. water), then washed in water, and dipped into a solution of ferric chloride. (The Prussian blue test of Zacharias).

Lastly by the action of potassium iodine (5 gr. potassium iodine, 1 g. iodine, 100 c.c. water), phosphomolybdic acid (90 gr. distilled water, 5 gr. concentrated nitric acid, 1 gr. sodium phosphomolybdat, left for a week and then filtered) or concentrated nitric acid, they are stained yellow.

FREIBERG (6) has found that it is probable that an excess of albuminoid material exists in the lighter areas of the mosaiced tobacco plants.

Such albuminoid material occurs also in the nuclei; and it seems probable that the square and oblong intranuclear plates (10), found associated with mild tobacco mosaic on several solanaceous hosts, bleaching mosaic on pepper, tomato and tobacco mosaic on henbane may prove of the same nature. The association of these intranuclear crystals with the mosaic disease is rather doubtful as they are already described in many plants such as *Melampyrum arvense, Russelia juncea, Candollea adnata, Polypodium caespitosum, Campanula trachelium* etc. (31). Holmes (11) observed some conspicuous spheres in the bodies in *Hippeastrum equestre*. He has compared them with similar structures in the nerve cells in rabies and the intranuclear ones in human small pox. It will be of interest to know if these prove to be of protein type as well.

THE INTER-RELATION OF THE VACUOLATE BODIES.

Such vacuolate bodies have been found in several other plants affected with mosaic or similar diseases. Distinction has been tried to be made according to the monocotyledonous or dicotyledonous type of the plant. The general nature of these bodies is so strikingly similar in both these types that such a distinction is in my opinion unnecessary. To give a general idea about their existence in different plants, the following list is made according to these two types of the phanerogams

in which they have been observed. In the monocotyledons they were studied in sugarcane (2, 3, 15, 20, 30), Hippeastrum (2, 11, 16, 27), corn (2, 14), wheat (28), Eucharis (2), sorghum (2), and Soudan grass (2); among the dicotyledons they were observed in tobacco (4, 5, 7, 8, 10, 12, 13, 16, 34, 38, 41), potato (10, 42), Dahlia (9), *Evonymus japonica* (41), *Phytolacca decandra* (41), Chinese cabbage (16), strawberry (35), sugarbeet (38), grapevine (36), sandal and red periwinkle (32). However in the following discussion no such distinction will be followed.[1])

Although in the beginning, the study of these corpuscles was limited to the pale yellow blotches of the leaves of affected plants and the gall tissue of the Fiji Disease of sugarcane, their existence, later on, was found by no means restricted to these parts. I have found them present in all the tissues of the tobacco plant and Mc KINNEY *et al* of the wheat. They were observed in leafsheaths, stem phloem, and adjoining tissue, procambial strands, tracheids (sugarcane) in parenchymatous tissue of the stalk, outer portions of the cob and its pith and certain fibrovascular bundles (corn), stomatal cells, trichomes, and epidermal tissue of almost all the affected plants. In the growing parts of Hippeastrum, KUNKEL found them and in those of Dahlia, GOLDSTEIN studied them. HOGGAN has found them all over the leaf lamina except the fibrovascular bundles. COOK fails to find them in roots while Mc KINNEY *et al*, GOLDSTEIN, RAWLINS and PLAKIDAS have observed them in those parts in wheat, tobacco, sugarbeet and strawberry respectively. KUNKEL saw them dividing within the cells in the process of division while COOK never finds such a thing. BREMER found them present in the E K 44 and Hawaii 211 varieties of sugarcane affected with the stripe disease but lacked them completely in eight varieties of sugarcane and one corn plant affected with sugarcane mosaic. They may or may not be found in heavily diseased plants of Hippeastrum (11). Only in one instance namely in Dahlia, GOLDSTEIN found such a body intranuclearly present.

From the above statements one is confused about the exact position of these bodies in the plants. More exact studies are required to clear up all these points. The lack of these individuals in certain cells or

---

[1]) Miss ECKERSON in her paper on „An organism of tomato mosaic" (Contr. Boyce Thomp. Inst. for Plant Res. 1 : 3, 109—114, 19—22 pl.) represents some flagellate organisms found in Hippeastrum Johnsonii, Dahlia, and Squash. I have not considered them here as they seem to be of a different type, though GOLDSTEIN seems to think them as like organisms under crushed conditions.

parts can only be explained for the present by their not being affected. However, their complete absence in certain plants giving external signs of disease remains yet inexplicable. It may be due to defective fixing or „to some lack of conditions sufficient to cause the mottling but not enough for the formation of inclusions" (26).

They are one or more in a cell (Mc WHORTER quotes from 1 to 6 in Fiji disease of sugar cane) and their position is not at a fixed point; they may lie anywhere in the cell. Often they are said to be in close contact with the nucleus and in corn they are found only so. If closely attached to the nucleus, by their pressure the nucleus naturally gets distorted. In corn and *Hippeastrum Johnsonii* they have been found clustered round the nucleus. I have equally observed them so in tobacco. But this position is rather accidental. There does not seem any special attraction between them and the nucleus. Sometimes they completely surround the nucleus (corn, wheat), when they are larger than the nucleus. In Petunia, yellow mosaic of tobacco produced bodies considerably larger in size (10). This Petunia mosaic lacked in the crystalloid material and therefore is considered to be of another type than the tobacco number I. The bodies in potato (42) are evidently larger than the nucleus and HOGGAN points them out as twice the size of the host nucleus. Their passing over the nucleus, apparently a temporary obstacle in their way, can be traced by the marks left on it.

It has been suggested that they influence the degeneration of the host nuclei (10). I do not think it probable that they exert any direct influence on the nuclei. The affected cell may get degenerated owing to old age. Had they any such effect on the cell nucleus, it would in my opinion have appeared in the very beginning. When studied in growing points no change in mitosis has consequently been observed (9).

The form of these bodies is very variable and differs according to the nature of disease as it seems. They are larger than the nucleus in corn, wheat, Hippeastrum, Petunia and smaller in tobacco, and sugar cane.

Generally irregular, oval or round, pearshaped, spherical but never so in corn (see KUNKEL 14), coarsely reticulate, minute in early stages but growing larger in severely diseased cells and more or less amoebae-like has been defined as the structure of these corpuscles. I have found them in all these shapes in tobacco. Unfortunately attention is not always given to the measurement of these bodies. In tobacco they are found to be of $6 \times 4\ \mu$, and in sugar cane $25—30 \times 5\ \mu$. The bodies in wheat as measured from the figures proved to be of $12 \times$

10 μ dimensions (28). The longest was 110 μ in length and the smallest only 3 $\times$ 3 μ. The form of these bodies varies according to the nature of the disease and if care is taken to measure them, it will prove of much help to ascertain the nature of similar diseases in plants of resembling characters. KUNKEL finds the bodies in corn larger than those of sugar cane and consequently thinks that disease to be different from that of sugarcane.

They have got a dense plasma having granular structure and can thus be very easily distinguished from the surrounding cell contents under living conditions. Old bodies are less dense. They get deeply stained. A distinguishing character of these bodies is that all of them contain vacuoles. Their number may differ from one to many and they are scattered all over their plasma. Some deepstaining rings are occasionally seen round these vacuoles along with deepstaining granules with radiations. The nature of this plasma seems to me very similar to that of the mitochondria. POLITIS (36) may have very likely taken the brown corpuscles found in the grape vine affected with the „browning (brunissure) disease" for simple transformations of the granular mitochondria. As no figures are given, nothing could be said definitely about the bodies described by him.

A membrane is often present, although on account of the deepstaining property of the plasma it can be detected only when the degeneration in the body proceeds on account of the age.

A veil-like structure was found to be attached to some of these bodies in corn (14).

An autonomous movement is present in them as long fine pseudopodia with a wavy outline and more hyaline structure than the rest of the body are shown to be thrown out; the body itself may get into a long pseudopodiumlike protuberance (wheat, sugar cane, tobacco and dahlia). Mc KINNEY has compared the movement in the wheat bodies with that of mitochondria.

Some deeply staining granules are always found existing within the plasma of these bodies, but they may or may not be evident (14). These are especially visible, when the bodies are lightly stained. Their affinities to nuclei are very doubtful and workers on the line have never taken them so. The absence of nuclei has long served as a strong argument against their being living organisms. The plasma of these bodies is so densely chromatophile that it would be very likely to think such material scattered all through it. Certain lower organisms have been known to lack the nuclear material or to have it mixed up com-

pletely with the cellular contents of the organism. Recently a special search was made in the bodies found in *Hippeastrum equestre* to find out the presence of such material if any (11). Only fat globules and some chondriosomes could be recognized. BREMER (2) has equally found fat globules in Hippeastrum bodies he studied.

Although not observed by some workers, division seems to be very commonly present. It has been for certain observed in tobacco, sugar cane and dahlia. Along with the cell division it takes place and this seems to be one of the ways of providing infection to the new cells. Mc WHORTER has observed amitotic division in the bodies of sugar cane (30). Clefts are produced in the bodies of sugar cane and tobacco. Breaking of the body into several chromidial filaments is common in sugar cane (30). The particles thus given out may seem to regenerate and produce new organisms.

Encystment does take place. A rather thick membrane is produced round the body and the plasma gets concentrated into it. There are few vacuoles in the encysted bodies as compared to the free ones. Mc WHORTER seems to have got new organisms through germinations from these cysts. An interesting sort of encystment is described in corn by KUNKEL. In this case a long body was divided into several cysts, kept separated by the shrinking of the plasma in the middle places.

I have found sporulation in tobacco. Innumerable minute globules are formed within the body which getting loose, are spread all over the host and serve for new infection.

PALM (34), MATZ (23, 24) and REINKING (39) have classed these granular corpuscles under chlamydozoa, and BEWLEY (1) has found some small granular forms in tomato mosaic cultures. These have been defined by them as causal organisms. PLAKIDAS (35) in strawberry xanthosis says „in what appears to be the final stage in the process of degeneration, the remnant of the nucleus and the bodies disappear and the entire cell is filled up with amorphous, somewhat granular material, staining black with haematoxyline". HOGGANS (10) found it possible „to trace back the x-bodies to very small forms which appeared always in close contact with the host nucleus, irregular, different shaped and without any vacuoles". All these granular bodies seem to have arisen from the sporulation of the vacuolate bodies.

Accompanying these bodies BREMER (2) observed another type of spindle shaped, striped bodies, single or grouped together in a mass.

PLAKIDAS (35) finds definitely spherical bodies along with the x-ones, in strawberry cells affected with xanthosis. In addition these extra-bodies seem to have a membrane. He has named them y-bodies after RAWLINS (37) who has distinguished them so in the root-tips of beet plants affected with curlytop disease. We are not for the present in a position to decide the nature of these extra corpuscles found in the cells of the affected plants.

HOGGANS has observed another type of material in all the virus diseases studied except calico, leaf roll and streak. It is brownish in nature and sometimes occurs in the cells containing the bodies. It seems like degenerated cytoplasm from the figures. No connection between this material and the vacuolate bodies can as yet be said to be convincing.

So far as is known to the present writer the crystalloid material has been found accompanying these bodies in the tobacco mosaic (number 1). It proves to be a special secreting capacity of the specific bodies, confined to that mosaic. It is seen in connection with yellow tobacco mosaic and medium tobacco mosaic (10) but these diseases may prove exactly similar to the ordinary tobacco mosaic (number 1) as external symptoms can hardly be trusted in such diseases.

NATURE OF THE VACUOLATE BODIES.

About the nature of the vacuolate bodies found in plants affected with mosaic or like diseases, there has been much difference of opinion. IWANOWSKI (12) introduced the idea about their arising as the effect of the virus on the diseased cytoplasm or nuclei. Several later investigators on different plant diseases of the same type have been closely adhering to this theory, their principal argument being (a) the want of nuclear material in these bodies, (b) their scarcity or complete absence in certain affected plants, (c) their movement being only due to cytoplasmic currant. The want of nuclear material cannot prove the invalidity of an organism. Several plants and animals of the lower type have been known to lack such material completely or have it scattered all through the cytoplasm. Scarcity as discovered by COOK and complete voidity must be mostly depending on the nature of infection of the plant or of the organism existing under another form. Much work is required on this line to be able to come to some final conclusion. About the nature of their movement there remains hardly any more to be said.

It is time now to remind the scientists interested that this *effect of the cause* theory has been our long acquaintance. Time was there when fungi were taken as not the cause but the effect of the disease. It is opportune now to change the idea about these bodies as effect as there can be no doubt about their animal nature on account of (a) their presence (in large number in certain tissues) in the affected parts of the plant, (b) movement, (c) reproduction, and (d) encystment.

This article is restricted to the plant diseases; similar diseases are known to affect animals and man. Certain inclusions have also been reported as belonging to small pox, rabies, foot and mouth and other diseases. I have seen certain of these preparations through the kindness of Dr. J. P. BIJL Head of the department of bacteriology in the State Central Laboratory for Public Health (Utrecht) and his staff. No similarity could be detected in the nature of these inclusions. Nor as yet have been seen in the animal diseases several phases of these organisms as discovered in plants. MAGROU (22) has denied the causal nature of the so called chlamydozoa on account of their being found in the intoxicated nerve cells of the animals. No evidence has yet come forward of such findings in the intoxicated tissues of plants.

It has already been said that every portion of the plasma of these animalcules is capable of regenerating under favourable conditions. Recent investigations go to favour this theory as certain bacterial solutions are found to pass through very minute filters (19) and keep their power of regeneration. The dense plasma or the minute granular form can render itself so elastic as to pass through these filters.

Attempts have been made several times to name these organisms. PALM (34) calling the minute granules chlamydozoa, named the forms in tobacco *„Strongyloplasma Iwanowski"*; MATZ (23) later on considered the granular organisms in sugarcane of the same nature. This nomenclature cannot be accepted as it refers to a phase in the life history of the principal organisms — *the vacuolate bodies.*

LYON (20) has named the bodies found in the Fiji galls of sugar cane *Northiella sacchari.* No diagnosis was given and the genus was created simply because he had obtained the material from Mr. NORTH. It is out of question to accept this name as well.

Mc WHORTER (30) has been more systematic in diagnosing and suggesting the name of Phytamoeba for the genus. But the bodies although resembling amoebae in their form are different from them by the deficiency of nuclei, by the diffusion of chromidial material all

through their plasma and by the much higher resistance for heat, certain chemicals and drying. Nor are the amoebae filterable. Besides amoebae are found in plants (33). The name *Phytamoeba* is considered therefore to be misleading. On account of the uniform vacuolate nature (which is the chief characteristic feature amongst them) I suggest for the genus the name:

Vacuolarium n. gen.:

Parasitic, intracellular, organisms with dense, hyaline plasma of the nature of mitochondria; membrane present but may be invisible under certain conditions; one or several vacuoles; round, oval, pear or irregular shaped; no nuclear structure detectable; minute chromidial granules sometimes present; producing pseudopodia; regenerating by division, fission, encystment, sporulation or from any part of the plasma; of a filterable nature, and having a particular thermal death point for the whole organism or its component particles.

Animalcule occurring in several plants, producing chlorosis, stripe, gall and other severely infectious diseases, commonly known as virus diseases.

Vacuolarium Iwanowski n. sp.

Round, pear shaped or oval organisms; one to many vacuoles; pseudopodia very fine; reproduction by division, fission, encystment, sporulation; size $6 \times 4\ \mu$, and secreting albuminoid material, forming crystals of polyhedral, striated or crescent shape. The thermal death point is at 90° C for 10 minutes.

In tobacco and other solanaceous plants.

SUMMARY.

1. Vacuolate bodies have been found in all the phases of their life in the tobacco stem affected with tobacco mosaic number I. They were also found in Tomato, Petunia, Hyoscyamus and Solanum nigrum affected with the same mosaic.
2. Crystals found accompanying these diseases are formed from the albuminoid material secreted by the vacuolate body. They vary from polyhedral, striated to crescent form according to the age of the diseased part.
3. No nuclear material was found present in the vacuolate bodies.
4. These bodies prove to be of mitochondrial structure and regenerate by division, fission, encystment and sporulation. They are considered to be of animal nature.

5. The term *Vacuolarium* is proposed for the genus; *V. Iwanowski* is the name given to the specific organism causing tobacco mosaic number I.

I wish to express my great indebtedness to Professor H. M. QUANJER, without whose constant encouragement this work would have been impossible.

Instituut voor Phytopathologie.
Laboratorium voor Mycologie en aardappelonderzoek,
Wageningen (Holland).

APPENDIX.

A TABULAR INDEX TO VACUOLATE BODIES FOUND IN DIFFERENT PLANTS.

I. MONOCOTYLEDONS.

Host.	Variety.	Year.	Dimensions.	Author.	Remarks.
1. Saccharum officinarum		1910		Lyon	Fiji Disease of galls. The first figure of the bodies in sugar cane was given. Called it *Northiella sacchari.*
		1919 1922	less than 1 μ	Matz	Mosaic and yellow stripe — these are minute granular bodies and seem to be the last phase of the organism.
		1921		Reinking	Fiji Disease.
		1922	seldom more than 12 μ	Mc. Whorter	Calls it *Phytamoeba sacchari.*
	Demerara 117 " 625 " 1135 New Guinea 111 " 118 Badila yellow Caledonia	1924	25 — 30 × 5 μ	Kunkel	Fiji Disease and Mosaic.
		1925		Cook	Mosaic. Very scarce.
	E K 44 Hawaii 211	1926		Bremer	Stripe. Not found in E K 28 D T 52 247 B S W 3 Tjeweng Payaman Soerat Payaman Ratoe II Bali Betoeng I Rokan Kapoer I Rokan Mia Bau

					on which the disease was transferred.
3. Andropogon sorghum . .		1926		Bremer	Stripe.
4. Andropogon halepensis . .		1926		Bremer	Stripe.
5. Triticum sativum	Harvest Queen	1923		Mc. Kinney, Eckerson and Webb	Mosaic and Rosette diseases. Both the diseases due to one causal agent.
6. Hippeastrum equestre . .		1922 1924		Kunkel	Probably the same disease as found in tulips, narcissi, and hyacinths.
		1926		Bremer	In addition found some striped bodies.
		1928		Holmes	A search for nuclear material, which was not found.
7. Hippeastrum Johnsonii . .		1923		M. Kinney, Eckerson and Webb	
8. Eucharis amazonica . .		1926		Bremer	Stripe.

II. DICOTYLEDONS.

1. Nicotiana Tabacum . . .		1903		Iwanowski	Index cell to tobacco mosaic (number I).
		1906		Delacroix	1. Vacuolate body.
		1922		Palm	2. Polyhedral crystal.
		1922		Dickson	3. Nucleus.
		1924		Kunkel	4. Striated body.
		1924 1926		Goldstein	5. Micula. 6. Crescent crystal.

Host.	Variety.	Year.	Dimensions.	Author.	Remarks.
		1925		Rawlins and Johnson	All these three types of inclusions found in my graft-transmitted mosaic on
		1926		Smith, F. F.	Tomato
		1927		Hoggans	Petunia
		1928	$6 \times 4\ \mu$	Klebahn	Henbane and Solanum nigrum
					Potato Rural New Yorker.
					The other sorts of inclusions were found by other workers in the following plants in addition to the above ones.
					Capsicum annuum.
					Datura.
					Physalis alkekengi.
					" pubescens.
					" franchetti.
					Nicandra physaloides.
					Solanum aculeatissimum.
					" laciniatum.
					" miniatum.
					" atropurpureum.
					" cabiliense argentum.
					" marginatum
					" pyracanthum.
					" tuberosum variety Green Mountain.
					It is proposed to take these bodies as an index to this sort of mosaic, called Tobacco Mosaic I.

	" "				Crinkle mosaic.
	Green Monntain				
	Bliss Triumph	1927		Hoggans	Rugose mosaic.
	Early Ohio				
	Bliss Triumph				" "
	American Wonder				Supermild mosaic.
	" "				Mild mosaic.
	Rural New Yorker				Montana crinkle.
	Green Mountain				Leaf rolling mosaic.
					No such material was found with calico and leafroll on Burbank and streak on Bliss Triumph.
4. Vitis sp.		1921		Politis	Browning disease. Thinks them to be transformations of mitochondria.
5. Brassica pekinensis . . .		1924		Kunkel	Mosaic.
6. Beta vulgaris		1926		Rawlins	In addition other sorts of more regular bodies, named as y-bodies are mentioned.
7. Evonymus japonica . . .	1. Argentio-variegata 2. Mediopicta	1926		Smith, F. F.	Infectious chlorosis.
8. Phytolacca decandra. . .		1926		Smith, F. F.	In several other chloroses which were not of an infectious nature, no bodies were found.
9. Fragaria sp.		1927		Plakidas	Xanthosis (yellows) y-bodies of Rawlins were found.
10. Dahlia sp.		1927		Goldstein	Dwarfing and mosaic.
11. Santalum album		1928		Narasimhan	Spike disease.
12. Vinca rosea					Mosaic.

LITERATURE

(Such preliminary notes, of which a detail paper has later appeared, have been dropped from this list.)

1. BEWLEY, W. F. 1923. Minute „Organisms" isolated from the virus of Mosaic Disease of Tomato. Nature. 112 : 2825; 903.
2. BREMER, G. 1926. Een cytologisch onderzoek van Strepenziekte bij Suikerriet en andere planten. Archief voor de Suikerindustrie in Nederlandsch Indië. N°. 11, 337—371, 20 text-figures.
3. COOK, M. T. 1925. Histology and Cytology of Sugarcane Mosaic. The Journal Dept. Agric. Porto Rico. 9 : 1, 5—27, 58 figures.
4. DELACROIX, G. 1906. Recherches sur quelques maladies du Tabac en France. Inst. Nat. Agron. Ann. II. 5 : 18—65.
5. DICKSON, B. T. 1922. Studies concerning Mosaic Diseases. Mac Donald College Technical Bulletin. N°. 2, 1—108, 8 plates.
6. FREIBERG, G. W. 1917. Studies in the Mosaic Diseases of Plants. Ann. Missouri Bot. Gard. 4 : 2, 175—232, 14—17 plates.
7. GOLDSTEIN, B. 1924. Cytological study of living cells of Tobacco plants affected with Mosaic Disease. Bull. Torrey Bot. Club. 51 : 261—272, 2 text-fig., plate N°. 5.
8. —— 1926. A cytological study of the leaves and growing points of healthy and mosaic diseased Tobacco plants. Ibid. 53 : 499—599, 1—4 text-fig., 18—29 plates.
9. —— 1927. The X-bodies in the cells of Dahlia plants affected with mosaic disease and dwarf. Ibid. 54 : 285—293. 2 text-fig., 18—20 plates.
10. HOGGAN, I. 1927. Cytological studies on virus diseases of Solanacaeous plants. Journ. Agric. Research. 35 : 7, 651—671, 2 text-fig., 3 plates.
11. HOLMES, F. O. 1928. Cytological study of the intracellular body characteristic of Hippeastrum mosaic. Bot. Gaz. 86 : 1, 50—58, 3 plates.
12. IWANOWSKI, D., 1903. Uber die Mosaikkrankheit der Tabakspflanze. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. 13 : 1, 1—41, 3 plates.

13. KLEBAHN, H. 1928. Experimentelle und cytologische Untersuchungen im Anschluss an Alloiophyllie und Viruskrankheiten. Planta, Archiv für Wissenschaft. Botanik. 6 : 1, 40—95, 70 text-figures.

14. KUNKEL, L. O. 1921. A possible causative agent for mosaic disease of Corn. Bull. Exp. Sta. Hawaii. Sugar Planters Association 3 : 1, 44—58, 2 text-fig., 5—15 plates.

15. —— 1924, a. Histological and cytological studies on the Fiji disease of Sugar cane.
Ibid. 3 : 2, 99—107, 1 text-fig., 24—28 plates.

16. —— 1924, b. Further studies on the intracellular bodies associated with certain mosaic diseases. Ibid. 3 : 2, 108—114, 2 text-fig., 29th plate.

17. —— (RIVERS T.) 1928. Virus diseases of plants (Filterable viruses) pp. 335—363. 3 plates. Williams and Wilkins Co., Baltimore.

18. LANGERON, M. 1925. Précis de Microscopie. Masson et Cie, Paris.

19. LIESKE, R. 1928. Untersuchungen über die Krebskranheit bei Pflanzen, Tieren und Menschen.
Centralbl. Bakt. Abt. I. 108 : 1—4, 118—146, 1—3 plates.

20. LYON, H. L. 1910. A new cane disease now epidemic in Fiji.
Hawaiian Planters' Record. 3 : 200—205.

21. —— 1921. Three major cane diseases: Mosaic, Sereh and Fiji Disease.
Bull. Exp. Sta. Hawaii. Sugar Planters' Association 3 : 1, 1—43, 27 text-fig., 4 plates.

22. MAGROU, J. 1923. Virus filtrants et Chlamydozoaires.
Revue Path. Veg. et d'Ent. Agricole. 10 : 1, 41—43.

23. MATZ, J. 1919. Infection and nature of the yellowstripe disease of cane.
Journ. Dept. Agric. Porto Rico. 3 : 41, 65—82, 1—11 fig.

24. —— 1922. Recent developments in the study of the nature of mosaic disease of sugar cane and other plants.
Ibid. 6 : 3, 22—27, illus.

25. —— 1922. Recientes investigaciones en el estudio de la naturaleza del mosaico de la cana de azucar, otras Plantas.
Rev. Agri. Porto Rico. 9 : 9—12.

26. Mc KINNEY, H. H. 1925. Certain aspects of the virus diseases. Phytopathology 15 : 4, 189—202.

27. Mc KINNEY, H. H., ECKERSON, S. H. and WEBB, R. W. 1923. The intracellular bodies associated with a mosaic of Hippeastrum Johnsonii. Phytopathology. 13 : 1, 41—42.

28. —— - 1923. The intracellular bodies associated with the rosette and a mosaiclike leaf mottling of wheat. Journ. Agr. Research. 26 : 12, 605—608, 1—8 plates.

29. Mc KINNEY, H. H., WEBB, W. and DUNCAN, G. H. 1925. Wheat rosette and its control. Univ. Illinois Agric. Exp. Station. 264, 275—295, 8 text-fig. 1 plate.

30. Mc WHORTER, F. P. 1922. The nature of the organisms found in Fiji galls of sugarcane. Philippine Agr. 2 : 103—111, 2 text-fig., 1—2 plates.

31. MOLISCH, H. 1921. Microchemie der Pflanze. Verlag von Gustav Fischer, Jena.

32. NARASIMHAN, M. J. 1928. Note on the occurrence of intracellular bodies in spike disease of sandal (Santalum album L.). Phytopathology. 18 : 9, 815—817, 3 figures.

33. NIESCHULZ, O. 1925. Die parasitischen Protozoen der Pflanzen. Handbuch der Pathogenen Protozoen, 11, 1799—1813, 14 text-figures.

34. PALM, B. T. 1922. De mozaiekziekte van de tabak een Chlamydozoonose? Bull. Deliproefstation. 15 : 3—10.

35. PLAKIDAS, A. H. 1927. Strawberry xanthosis (yellows). A new insect-borne disease. Journ. Agr. Res. 35 : 12, 1057—1090. 13 text-fig., 1 plate.

36. POLITIS, J. 1921. Sur les corpuscles bruns de la brunissure de la Vigne. Compt Rend. Acad. sci. (Paris). 172 : 870—873.

38. RAWLINS, T. E. 1926. Cytology of Root tips from sugar beet having the curly top disease. Phytopathology 16 : 10, 761.

37. RAWLINS, T. E. and JOHNSON, J. 1925. Cytological studies of the mosaic disease of tobacco. American Journal of Botany. 12 : 1. 19—32. 5 plates.

39. REINKING, O. A. 1921. Fiji disease of sugar cane. Sugar Cent. and Plant News. 2 : 41—48.

40. SCHNEIDER, H. (ZIMMERMAN). 1922. Die botanische Mikrotechnik. Verlag von Gustav Fischer, Jena.

41. SMITH, F. F. 1926. Some cytological and physiological studies of mosaic diseases and leaf-variegations.
Ann. Missouri Bot. Garden. 13 : 4, 425—484, 4 text-fig. 13—16 plates.

42. SMITH, K. M. 1924. On a curious effect of mosaic disease upon the cells of the potatoleaf.
Ann. of Botany. 38 : 150, 385—388, 4 text-figures.

43. SOROKIN, HELEN. 1927. Phenomena associated with the destruction of the chloroplasts in tomato mosaic.
Phytopathology, 17 : 6, 363—379, 12—15 plates.

REFERAAT.

DE AARD EN BETEEKENIS VAN DE INTRACELLULAIRE LICHAAMPJES, DIE VOORKOMEN BIJ DE MOZAIEKZIEKTE DER TABAK.

Door IWANOWSKI en verschillende andere auteurs, genoemd in de inleiding, zijn amoebeachtige, soms ook op kristallen gelijkende lichaampjes in de cellen van mozaiekzieke tabak gevonden. De schrijver onderzocht zieke Tabak en Tomaat, Petunia, Hyoscyamus en Solanum nigrum, die met tabaksmozaiek door enting waren geïnfecteerd, na fixatie met kaliumbichromaat, chroomzuur en osmiumzuur, waarbij deze lichaampjes een zeer donkere kleur aannemen. Hij vond ze in alle duidelijk zieke deelen der plant; niet in gezonde planten. In de weefsels aan den omtrek, zijn zij kleiner dan in het centrum; de allerkleinste zijn dezelfde lichaampjes, die KLEBAHN „miculae" noemde. De lichaampjes bewegen zich door middel van pseudopodia, zij kunnen zich daarmee door celwanden heenboren (P. 1, fig. 7). Zij zijn van vacuolen voorzien; de kleinere lichaampjes hebben slechts één vacuole, de kleinste geen enkele. De afmetingen der grootere lichaampjes zijn $6 \times 4\ \mu$, soms iets grooter (Pl. 1, fig. 10 en 11); die, welke in de houtvaten voorkomen, zijn grooter en van wijder vacuolen voorzien (Pl. 1, fig. 12). De lichaampjes zelf, zoowel als de vacuolen, hebben fijne membranen (Pl. 1, fig. 8 en 9). Soms raken zij de celkern (Pl. 2, fig. 13) of liggen er om heen, evenwel zonder die aan te tasten. Bij hun bewegingen laten zij fijne deeltjes achter (Pl. 1, fig. 14, Pl. 2, fig. 15), die weer tot nieuwe lichaampjes schijnen te kunnen uitgroeien, soms vormen zij cysten (fig. 16), soms scheiden zij zich daarbij in twee lichaampjes (Pl. 2, fig. 17 en 18). De niet geëncysteerde lichaampjes deelen zich ook en kunnen daarbij door een plasmadraad verbonden blijven (Pl. 2, fig. 18). Conjugatie komt voor (Pl. 2, fig. 19 en 20). In de lichaampjes en de vacuolen worden zeer kleine korreltjes gevormd (Pl. 2, fig. 21 en 22).

Ook worden andere op kristallen gelijkende lichaampjes bij het tabaksmozaiek gevonden. Deze „kristalloiden" zijn eerst langgerekt (Pl. 2, fig. 23); later vindt men polyedrische plaatjes, die van de kant gezien een gestreepte massa vormen; in zeer oude cellen zijn deze kristallen weer tot fijne vezeltjes uiteengevallen, die zich vereenigen tot een sikkelvormig voorwerp. Wanneer er op de kristalloide com-

plexen zuren of alcaliën inwerken, vallen zij tot de langgerekte vormen uiteen. Deze kristallen zijn voor het tabaksmozaiek (Tobacco virus, 1 JOHNSON) typisch, bij de meeste andere mozaiekziekten komen zij niet voor. Men kan ze vinden bij de Solanaceae, die met dit virus besmet zijn, zoodra de uitwendige symptonen zichtbaar worden. Volgens KLEBAHN zijn zij opgebouwd uit albuminoid materiaal. De schrijver kan dit bevestigen.

De van vacuolen voorziene lichaampjes zijn gevonden zoowel bij viruszieke exemplaren van monocotylen als van dicotylen (opsomming in de tabel, zie appendix). De schrijver vond ze bij mozaiekzieke tabak niet alleen in de bleeke, maar ook in de groene plekken en in alle weefsels.

De schrijver toont op grond van gegevens, aan de literatuur ontleend, aan, dat er kleine verschillen o. a. in grootte bestaan tusschen de intercellulaire lichaampjes bij verschillende plantensoorten; zoo zijn zij b.v. grooter bij mais, Hippeastrum en Petunia en kleiner bij tabak en suikerriet. Maar alle bevatten zij vacuolen. Cysten kunnen gevormd worden. De fijne korreltjes worden als voortplantingslichaampjes beschouwd, de kristalloïde lichaampjes schijnen zich te vormen uit de afscheidingsproducten der vacuolen-lichaampjes.

Het ontbreken van kernen in de vacuolen-lichaampjes heeft er aan doen twijfelen, of zij organismen zijn; de schrijver beschouwt ze als kleine dieren op grond van hun plasticiteit en hun vermogen zich voort te bewegen en zich te reproduceeren. Hij wijst op de gelijkenis met de lichaampjes gevonden bij pokken, hondsdolheid, mond- en klauwzeer en andere dierlijke ziekten, welke door de welwillendheid van Dr. BIJL en zijn assistenten bestudeerd konden worden aan het Rijks Centraal Laboratorium voor de Volksgezondheid. In den vorm van de fijne korreltjes moet het zijn, dat het organisme van de mozaiekziekte der tabak bacteriefilters kan passeeren. De naam *Strongyloplasma Iwanowski* Palm kan niet geaccepteerd worden daar hij gegeven is naar de afgescheiden koreltjes. De diertjes zijn bij alle virusziekten, waar men ze aantreft, in de eerste plaats gekenmerkt door vacuolen, reden waarom de schrijver de geslachtsnaam *Vacuolarium* invoert, die beter is dan de door Mc WHORTER voorgestelde naam *Phytamoeba*. Het organisme toch is geen amoeba. Het artikel eindigt met de diagnose van het geslacht en van de soort *V. Iwanowski* n. sp., het „Tobacco virus 1, Johnson".

EXPLANATIONS OF PLATES.

All figures were drawn with a camera lucida and the magnification is 1350. Figures 2 and 12 were reduced to half their size.

PLATE I.

Fig. 1 a, b.	Minute globular bodies found towards the external periphery.
c.	A larger body with one vacuole.
Fig. 2.	Crescent shaped crystal with 'miculae' in it.
Figs. 3—6.	Bodies giving out pseudopodia.
Fig. 7.	A vacuolate body passing through the cell membrane.
Fig. 8 a, b.	Aged bodies with granular plasma and lined vacuoles.
Fig. 9.	A body surrounded by a cell membrane.
Figs. 10—11.	Large sized bodies.
Fig. 12.	Foamy natured bodies found in the vascular tissue.
Fig. 14.	A body leaving a plasma trace behind.

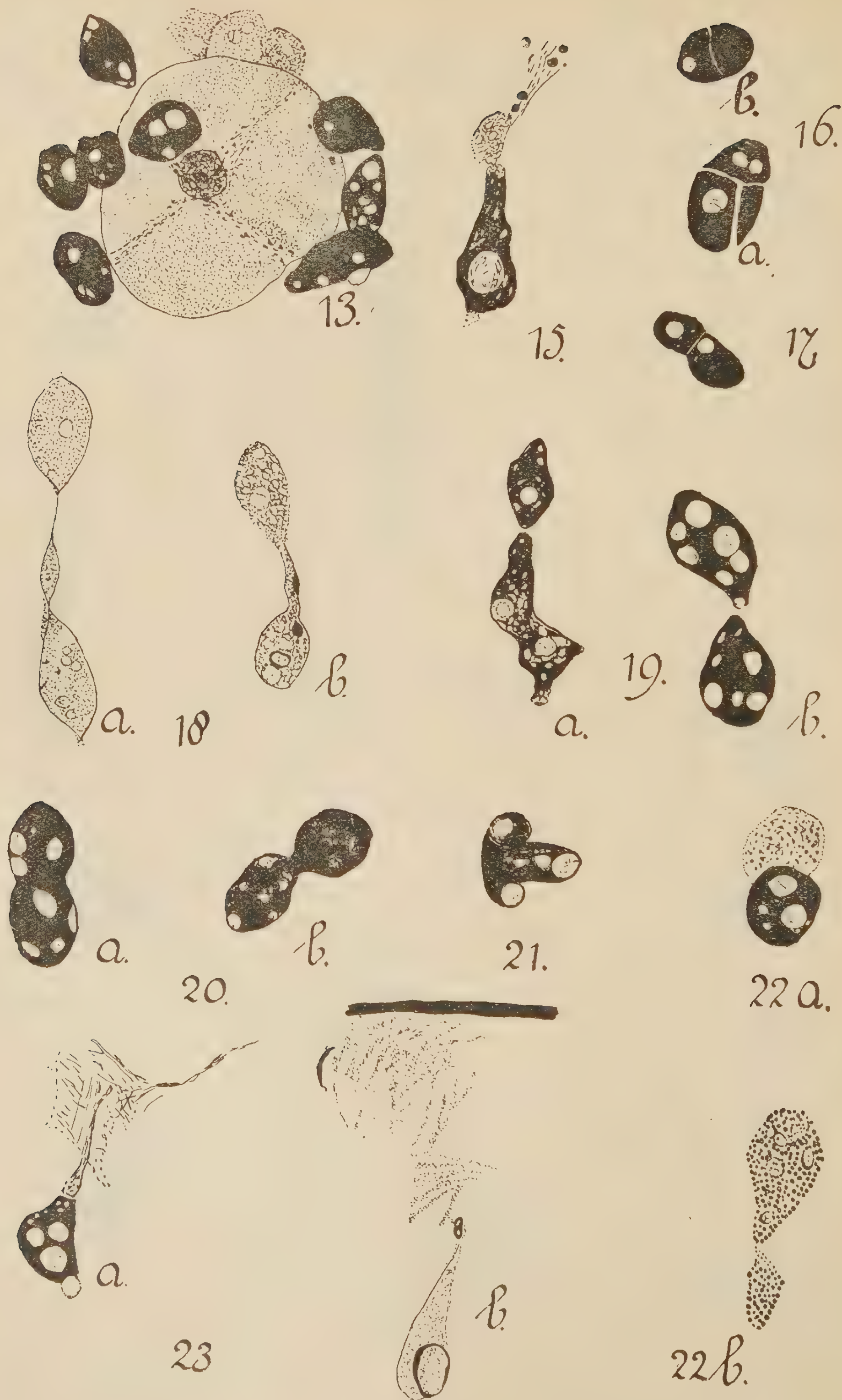
PLATE II.

Fig. 13.	A cluster of vacuolate bodies surrounding a nucleus and while passing over it show traces of their way.
Fig. 15.	Granular bodies left in its traces by a vacuolate body.
Figs. 16 a, b:	17. Fissions.
Fig. 18 a. b.	Plasma linkage between dividing bodies.
Fig. 19 a, b.	Two bodies approaching for fusion.
Fig. 20 a, b.	Fusion.
Fig. 21.	An abnormal fusion.
Fig. 22 a. b.	Sporulation.
Fig. 23 a, b.	Albuminoid secretions left by the vacuolate bodies.



V. LIKHITÉ. del.

Vacuolarium Iwanowski n. sp.



V. LIKHITÉ. del.

Vacuolarium Iwanowski n. sp.

II.

Cytological aspects of the Virus diseases in Plants.

by

V. Likhité.

A quarter of a century has elapsed since IWANOWSKI (19) opened a new era in the history of the virus diseases by his cytological expositions. But the represention of his findings in the diseased cells of tobacco moasic was so sceptic that it dit not awake the enthusiasm of scientific workers — the chief idea lurking behind their minds being that it was an enzymatic disease or a disease due to an ultra-microscopic, filterable organism. And even today there is quite a number of advocates who hold tenaciously to either of these opinions.

Much interest was awakened when LYON (32) observing a vacuolate organism (a body very similar to the one found by IWANOWSKI in mosaic diseased tobacco) in the Fiji disease of sugar cane put forward his view as to its causal nature. But KUNKEL (25, 26, 27), working on the Fiji disease of sugar cane, and Hippeastrum and corn mosaics and confirming the presence of such vacuolate bodies in them, has creditably tried to propagate this causal theory. A stimulus thus being obtained, fascinated workers were not lacking. Here is no space to discuss the causal, effective or neutral status of any such bodies. A general review of the cytological work done on the problem is to be taken here as whatever may the nature of the said agent be, „the question remains primarily a cytological one" (Cowdry, vide page 114, Filterable Viruses).

Vacuolate bodies. Among the intracellular inclusions found so far in the affected cells of such diseases these vacuolate bodies may be said to be of prime importance. Their presence is evidenced every now and then in different plants affected with similar diseases. They have been so far discovered in sugarcane (3, 4, 26, 32, 33, 40), Hippeastrum (3, 18, 27, 38), corn (3, 25), wheat (39), Eucharis (3), Sorghum (3), and Soudan grass (3), amongst the monocotyledons; in dicotyledons they have been known to occur in tobacco (6, 7, 14, 15, 17, 19, 30, 44, 50, 53), potato (17, 54), Dahlia (16), *Phytolacca decandra* (53), *Evonymus japonicus* (53), Chinese cabbage (27), strawberry (46), sugar beet (49), grape vine (47), sandal and red periwinkle (41). Some attempts were made to distinguish them according to the cotyledonous

nature of the host (4). They are so strinkingly alike in all these plants that such distinction is considered quite unnecessary.

Such contradictory evidences are put forward as to the position of these vacuolate bodies in different tissues of plants that one would feel rather at a risk to define an exact place for them. But the *ensemble* of all workers gives the idea about their presence in all the infected tissues of such plants. So far only one body has been found to be karyooikonally present in dahlia by GOLDSTEIN (16). Their number in cells is very variable. The cellular plasma-like substance of these bodies approaches more that of mitochondria (30, 47).

The form of these vacuolate bodies is round, oval, pearshaped, irregular or amoeboid. Sometimes a veillike structure is attached to them (25). No nuclear structure has been observed though chromidial granules may be said to be invariably present in them. Fat globules have been discovered in Hippeastrum bodies (3, 18). But the main structure of them is their extremely *vacuolate* nature. The number of these vacuoles may vary from one to many according to the size and age of these bodies. Pseudopodia have been observed (14, 15, 25, 26, 27, 30). Occasionally a whole body can be seen to prolong itself into a long pseudopodiumlike protuberance (30, 39). Division, encystment, sporulation and conjugation do exist (15, 25, 26, 30, 40). Germination from cysts is reported (40).

The above characteristics of these vacuolate bodies are so convincing of their animal, and parasitic and consequently causal nature that several times attempts have been made to designate a name for them (33, 40). Recently a general review of the nomenclature was made and the term **Vacuolarium** has been proposed for the genus (30). Some granular bodies found especially in the epidermal tissue have been grouped under chlamydozoa and proposed as the causal organisms (34, 35, 44, 46, 51). A nomenclature was also created (*Strongyloplasma Iwanowski*) by PALM (44). Recently these bodies have been explained as a phase in the life history of the vacuolate bodies (30, 55) and the artificial nomenclature is consequently suppressed.

A very interesting organism has been described (13) in mosaic-affected plants of *Hippeastrum Johnsonii*, pepper, tomato, squash, strawflower and dahlia. This organism was found in other parts of the infected plant (veins and adjacent mesophyll cells) twenty-four hours after inoculation. Spore formation was also seen. GOLDSTEIN (16) has taken these organisms as crushed vacuolate bodies. These organisms are distinctly flagellate, have a nuclear structure, form peculiarly

typical spores and may be said to approach more definitely the swarmspores of a myxomycete. Plasmodium and swarmspores are not uncommon in mosaic infected and healthy plants (20) and very often mistakes are committed by taking them as causal organisms. A clear evidence as to the nonpathogenicity of these organisms has been lately proved (31).

The extra bodies. Some spindle shaped, striped bodies were seen in connection with the other bodies in the stripe disease of *Hippeastrum equestre* (3). More regular and spherical bodies with a definite membrane have been mentioned as associated with these x-bodies (a term created by GOLDSTEIN) in the root tips of sugar beet with curly top (49) and strawberry with xanthosis (46). Nothing can be explained for the present about the nature of these extra-bodies.

It will be noted that a complete lack of such bodies has been announced in the calico of tobacco, and streak and leafroll of potato (17).

Crystalloid material. Certain crystals are a constant association of tobacco mosaic number 1. (6, 7, 14, 15, 17, 19, 22, 30, 50, 53). Albuminoid in nature (22), they are represented in polyhedral, striated and crescent forms according to their plane of vision and age of the cell. Owing to their constancy in this particular mosaic they are included in the index of tobacco mosaic number 1 along with the specific vacuolate body called *Vacuolarium Iwanowski* (30). Crystals of the same nature but of spindle form have been proposed as distinguishing marks of the mosaic and intercostal mosaic of potato (22). Interesting will it be to know that vacuolate bodies were already observed in several potato virus diseases. These crystal formations are the albuminoid secretions given out by these bodies in certain plants (30).
Crystalloid material has also been observed in nuclei of certain mosaic diseased plants (17). The nature of these intranuclear crystals is very likely to be the same as the other crystalloid material. A confirmative work on the point is yet wanted.

Flagellate bodies. At the end of 1922 NELSON (42) published his observations on some biflagellate structures in the phloem cells of mosaicinfected bean and clover, and trypanosome-like bodies in the mosaic of tomato and leafroll of potato. A theory has long been prevaling about the location of the ultra microscopic causal organisms in

those parts of plants affected with such maladies. Failing to find such bodies in healthy plants and bearing in mind the analogy of like organisms in Euphorbaceous plants he exposed his theory as to the causal nature of these organisms of the virus diseases. PETRI (45) discovering a spiral body in the leafcurl disease of vine, declared it as the probable cause of the malady.

It turned out that such biflagellate forms had already been figured by STRASBURGER (56) and others in Leguminous plants and a complete lack of any such structures was pointed out in the cucurbitous plants. A close search to verify the results of NELSON was, therefore, made by using healthy material. Certain authors have in their investigations evidently mistaken the nuclei or degenerated nuclei for the findings of NELSON and cannot here be dealt with (21, 29). These bodies are found in cells in which the nuclei are conspicuous. They may also be found surrounding the nuclei (42).

However, later workers have left no doubt as to the non-organismic nature of these bodies (1, 2, 8, 12, 22, 23, 24). Their causal nature consequently being excluded, the hypothesis as to their effect of the causal organism — a very favourite theme of the scientists — is sifted through as they are equally present in healthy plants. KLEBAHN (22) has recently tried to specify these bodies to certain virus diseases of potato. But being convinced of their non-organismic nature the terms „trypanoplasts" and „mastigoplasts" are designated to them by him.

Although no movement was observed by later investigators NELSON's observations regarding them was explained as due to changes „owing to the disturbances in osmotic pressure and other equilibria on emersion in water" (2).

Nothing can be said decisively about the nature of these bodies. They have been explained as „waxy bodies" made up of „elongated masses of gummy material long known to be characteristic of certain sieve tubes; cytoplasmic aggregations or areas of contraction possibly associated with disintegrating plastids; and homogenous aggregate of unknown origin possibly of waxy nature (12)"; „dexiotropic cell contents of an albuminoid nature (23)"; or „simple protein bodies" (1). The latter statement about their proteinous nature appears more assuring as they give positive tests for iodine, Biuret and Millons reagentia (1, 56).

Elytrosomes and Skolekosomes. The spindle shaped, elongated or fusiform bodies termed 'elytrosoma' were found in the mosaic-affected sugar beet (52). Though not exactly of the same form, very similar

bodies were discovered in the mosaic infected plants of bean (*Vicia faba*). These latter differ from those found by NELSON in not having the flagella. In the beet plant these bodies produced granules within them which are supposed to be formed by sporulation. The disease is thought to be transmitted by the ingestion and injection of these granules by aphids, as these bodies were also found in the intestines of those insects. Much doubt, however, is thrown on these results as such bodies have been found in healthy plants and described under the name of 'ooplasts' by KLEBAHN (22). The 'skolekosome' bodies found in Anemones suffering from „alloiophyllie" are out of consideration here as they were detected in healthy plants, though the disease producing monstrosity in those plants seems to be transmissible.

Other cytological investigations. The recent results arrived at by DUFRENOY (9, 10, 11) throw another light on the different aspects of these diseases. In the green portions of the leaves of *Phaseolus vulgaris* affected with mosaic no change in the conditions of plastids and mitochondria was observed. In the affected regions of light coloured patches he found the plastids not sensitive to staining and the starch grains absorbed. Much swelling and vacuolisation occurred in the plastids and mitochondria. Plasmolysis took place more easily in the affected cells than in the green ones. Similar conditions were found in leaves attacked by *Colletotrichum lindemuthianum,* an evidence which favours the conception that the malady is due to parasitism (9).

Another condition, produced in healthy plants by the action of hypotonic solutions, was found to be present in the mosaic diseased cells of the leaves of *Phytolacca decandra* and *Sida sp.* (10). At the same time a modification of plastids and mitochondria and the irregularity in the staining of vacuoles in the discoloured portions of the leaves in the same plants was noticed.

A close resemblance between the mosaic diseases of plants and animals has been shown by the same author (11). Whereas the small, filamentous vacuoles in healthy tissue swell and fuse to form a small number of large vacuoles, in the diseased part there is a large vacuome, surrounded by a number of small, filamentous vacuoles, condition similar to that found in the cellular inclusions of animal vaccines.

Lastly a mention of the work of Tsinen (57) should be made here. It was the first work done on the study of the mitochondrial cell inclusions in the chlorosis of plants. No surety can be made as to the

infectious nature of all the chlorosis of plants studied by him except that of *Abutilon Thompsoni.*

Various aspects of the question are as yet open to investigators, although scientists are certain that it has very little attraction from this side of the page. We may yet not despair about approaching the causal nature of the problem by explaining the mechanism of the phenomenon from its cytological radiations.

Instituut voor Phytopathologie.
Laboratorium voor Mycologie en aardappelonderzoek,
Wageningen (Holland).

LITERATURE.

1. ARTSCHWAGER, E. 1924. Studies on the Potato tuber. Journ. Agr. Research, 27 : 11, 809—835, 1—8 text-fig., 1—10 plates.

2. BAILEY, I. W. 1923. Slimebodies of Robinia pseudacacia L. Phytopathology, 13 : 7, 332—333, 1 plate.

3. BREMER, G. 1926. Een cytologisch onderzoek van strepenziekte bij suikerriet en andere planten.
Archief voor de suikerindustrie in Nederlandsch Indië. N°. 11, 337—371, 20 text-figures.

4. COOK, M. T. 1925. Histology and cytology of sugarcane mosaic. Journ. Dept. Agri. Porto Rico. 9 : 1, 5—27, 58 figures.

5. —— 1927. Some effects of mosaic on the content of the cell. Phytopathology 17 : 1, 57.

6. DELACROIX, G. 1906. Recherches sur quelques maladies du tabac en France. Inst. Nat. Agron. Ann. 2 : 5, 18—65.

7. DICKSON, B. T. 1922. Studies concerning mosaic diseases.
Mac Donald College Technical Bull. N°. 2, 1—108, 1—8 plates.

8. DOOLITTLE, S. P. and Mc KINNEY, H. H. 1923. Intracellular bodies in the phloem tissue of certain plants and their bearing on the mosaic problem. Phytopathology, 13 : 7, 326—329, 1 plate.

9. DUFRENOY, J. 1928a. Modifications des mitochondries et des plastides dans les cellules de feuilles de Haricots affectées de mosaïque.
Compt. Rend. Soc. Bio. 98 : 5, 373—374, 1 text-figure.

10. —— 1928b. Conditions d'Hypotonie des cellules affectées par la mosaique.
Ibid. 98 : 17, 1499—1500, 2 text-figures.

11. —— 1928c. La vacuome des cellules de Canne à sucre affectées par la mosaique.
Ibid. 99 : 24, 503—505, 2 text-figures.

12. DUGGAR, B. M. and ARMSTRONG, J. K. 1923. Indications respecting to the nature of the infective particles in the mosaic disease of tobacco.
Ann. Miss. Bot. Garden. 10 : 3, 191—212.

13. ECKERSON, S. H. 1926. An organism of tomato mosaic. Contributions Boyce Thompson Inst. for Plant Research 1 : 3, 109—114, 19—22 plates.

14. GOLDSTEIN, B. 1924. Cytological study of living cells of tobacco-plants affected with mosaic disease.
Bull. Torrey Bot. Club. 51 : 261—272, 2 text-fig., plate N°. 5.

15. —— 1926. A cytological study of the leaves and growing points of healthy and mosaic tobacco plants.
Ibid. 53 : 499—599, 1—4 text-fig., 18—29 plates.

16. —— 1927. The X-bodies in the cells of Dahlia plants affected with mosaic disease and dwarf.
Ibid. 54 : 285—293, 2 text-fig., 18—20 plates.

17. HOGGAN, I. 1927. Cytological studies on virus diseases of Solanaceous plants.
Journ. Agri. Research. 35 : 7, 651—671, 2 text-figures.

18. HOLMES, F. O. 1928. Cytological study of the intracellular body characteristic of Hippeastrum mosaic.
Bot. Gaz. 86 : 1, 50—58, plate N°. 3.

19. IWANOWSKI, D. 1903. Uber die Mosaik-krankheit der Tabakspflanze.
Zeitschr. für Pflanzenkrankh. 13 : 1, 1—41, 3 plates.

20. JONES, P. M. 1926. Structure and cultural history of a mycetozoan found in tobacco plants with mosaic-like symptoms.
Bot. Gaz. 81 : 4, 446—459, 34—37 plates.

21. KASAI, M. 1924. Investigations on the NELSON's bodies as observed in the leafroll, mosaic and healthy plants.
Ber. Ohara Inst. fur Landwirtsch. Forschung, Kuraschiki 2 : 4, 443—461, 16—19 plates.

22. KLEBAHN, H. 1928. Experimentelle und cytologische Untersuchungen in Anschluss an Alloiophyllie und Viruskrankheiten. Planta, Archiv fur wissenschaft. Botanik 6 : 1, 40—95, 70 text-figures.

23. KOFOID, C. A., SEVERIN, H. H. P. and SWEZY, O. 1923. NELSON's spiral bodies in tomato mosaic not protozoa. Phytopathology, 13 : 7, 330—331.

24. KOTILA, J. E. and COONS, G. H., 1923. Trypanosomelike bodies in Solanaceous plants. Phytopathology 13 : 7, 324—325.

25. KUNKEL, L. O. 1921. A possible causative agent for the mosaic disease of corn. Bull. Exp. Sta. Hawaii. Sugarplanters' Assoc. 3 : 1, 44—58, 2 text-fig., 5—15 plates.

26. —— 1924 a. Histological and cytological studies on the Fiji disease of sugarcane. Ibid. 3 : 2, 99—107, 1 text-figure, 24—28 plates.

27. —— 1924b. Further studies on the intracellular bodies associated with certain mosaic diseases. Ibid. 3 : 2, 108—114, 2 text-fig., plate N°. 29.

28. —— (RIVERS T.) 1928. Virus diseases of plants (Filtrable Viruses). pp. 335—363, 3 plates.
WILLIAMS and WILKINS Co., Baltimore.

29. LACEY, M. 1923. Protozoa and virus disease of plants. Nature 112. 280—281, 1 figure.

30. LIKHITÉ, V. 1928. The nature and relations of the intracellulaı inclusions present in the mosaic of tobacco.
Mededeelingen van de Landbouwhoogeschool, Wageningen. 34 : 1; 3—28, 2 plates.

31. LINK, G. K. K., JONES P. M. and TALIAFERRO, W. H. 1926. Possible etiological rôle of *Plasmodiophora tabaci* in tobacco mosaic.
Bot. Gaz. 82 : 4; 403—414.

32. LYON, H. L. 1910. A new cane disease now epidemic in Fiji. Hawaiian Planters' Record. 3 : 200—205.

33. —— 1921. Three major cane diseases: mosaic, sereh and Fiji disease.
Bull. Exp. Sta. Hawaii. Sugar Planters' Assoc. 3 : 1; 1—43, 27 text fig., 4 plates.

34. MATZ, J. 1919. Infection and nature of the yellowstripe disease of cane.
Journ. Dept. Agri. Porto Rico. 3 : 41, 65—82, 1—11 figures.

35. —— 1922. Developments in the study of the nature of mosaic diseases of sugarcane and other plants.
Ibid. 6 : 3, 22—27, illustrations.

36. —— 1922. Recientes investigaciones en el estudio de la naturaleza del mosaico de la cana de azucar, otras plantas.
Rev Agri. Porto Rico. 9 : 9—12.

37. Mc KINNEY, H. H. 1925. Certain aspects of the Virus diseases. Phytopathology. 15 : 4, 189—202.

38. McKINNEY, H. H., ECKERSON, S. H. and WEBB, R. W. 1923. The intracellular bodies associated with a mosaic of Hippeastrum johnsonii.
Phytopathology, 13 : 1, 41—42.

39. —— 1923. The intracellular bodies associated with the Rosette and a mosaiclike leaf mottling of wheat. Journ. Agri. Research 26 : 12, 605—608, 1—8 plates.

40. Mc WHORTER, F. P. 1922. The nature of the organisms found in Fiji Galls of sugarcane.
Philippine Agricul. 2 : 103—111, 2 text-figures, 1—2 plates.

41. NARASIMHAN, M. J. 1928. Note on the occurrence of intracellular bodies in spike disease of sandal (Santalum album L.)
Phytopathology. 18 : 9, 815—817, 3 figures.

42. NELSON, R. 1922. The occurrence of protozoa in plants affected with mosaic and related diseases.
Mich. Agri. Exp. Sta. Techn. Bull. 58 : 1—30, 18 text-figures.

43. —— 1926. Report of work in plant pathology of the Michigan station.
Mich. Sta. Rep. 255—259.

44. PALM, B. T. 1922. De mozaiekziekte van de tabak een Chlamydozoonose?
Bull. Deli proefstation. 15, 3—10.

45. PETRI, L. 1923. L'arriciamento della vite e una malattia prodotta da protozoi.
Att. R. Acad. Lincei Roma Rendiconti Cl. Sci. Fis. Mat. e Nat. 32 : serie 5*a*, 1°. sem. fas 8°; 395—397, 1 text fig.

46. PLAKIDAS, A. G. 1927. Strawberry Xanthosis (Yellows), a new insectborn disease.
Journ. Agri. Res. 35 : 12, 1057—1090, 1 text-fig., 1 plate.

47. POLITIS, J. 1921. Sur les corpuscules bruns de la brunissure de la vigne. Compt. Rend. Acad. Sci. Paris. 172. 870—873.

48. PURDY, H. A. 1927. Multiplication of the virus of tobacco mosaic in detached leaves.
Phytopathology. 17 : 1—58.

49. RAWLINS, T. E. 1926. Cytology of root tips from sugarbeet having the curly top disease.
Phytopathology, 16 : 10, 761.

50. RAWLINS, T. E. and JOHNSON, J. 1925. Cytological studies of the mosaic disease of tobacco. American Journal of Botany. 12 : 1, 19—32, 5 plates.

51. REINKING, O. A. 1921. Fiji disease of sugarcane.
Sugar Cent. and Plants News. 2 : 41—48.

52. SCHAFFNIT, E. and WEBER, H. 1927. Uber das Vorkommen von intracellularen Körpern in den Geweben mosaikkranker Rüben. Forsch. auf dem Gebiet der Pflanzenkrankh. und der Immunität im Pflanzenreich. 4 : 23—42. 6 text-figures.

53. SMITH, F. F. 1926. Some cytological and physiological studies of mosaic diseases and leaf variegations.
Ann. Missouri Bot. Garden. 13 : 4, 425—484, 4 text-fig. 13—16 plates.

54. SMITH, K. M. 1924. On a curious effect of mosaic disease upon the cells of the potatoleaf.
Ann. of Botany. 38 : 150, 385—388, 4 text-figures.

55. SOROKIN, H. 1927. Phenomena associated with the destruction of the chloroplasts in tomato mosaic.
Phytopathology 17 : 6, 363—379, 12—15 plates.

56. STRASBURGER, E. 1891. Über den Bau und die Verrichtungen der Leitungsbahnen in den Pflanzen.
Histologische Beiträge 3.
Gustav Fischer, Jena.

57. TSINEN, S. J. 1924. Recherches sur l'histologie des plantes panachées et sur le mecanisme cytologique de la panachure. Thèse présentée à la Faculte des Sciences de Nancy. 1—104. 13 text-figures, 13 plates.
Les Presses Universitaires de France, Paris.

DE BETEEKENIS DER CYTOLOGIE VOOR DE STUDIE VAN DE VIRUSZIEKTEN DER PLANTEN.

Een overzicht wordt gegeven van het cytologisch onderzoek van de virusziekten der planten, sedert den tijd dat IWANOWSKI zijn belangrijke, maar aanvankelijk weinig opgemerkte studie over het tabaksmozaiek publiceerde. Toen LYON vacuolen-lichaampjes bij de Fijiziekte van het suikerriet vond en KUNKEL dit onderzoek bij andere monocotylen voortzette, hebben tal van geleerden dezen weg gevolgd. Men heeft de vacuolen-lichaampjes nu gevonden zoowel bij virusziekten van vele monocotylen als bij die van vele dicotylen; wat men weet van hun structuur, deeling, encysteering, sporulatie, conjugatie, cysten, kieming en beweging is geschikt om de overtuiging te wekken, dat zij van dierlijken aard zijn en dat zij als de oorzaken van virusziekten moeten worden beschouwd. De geslachtsnaam *Vacuolarium* werd door LIKHITÉ voorgesteld in de plaats van vroeger gegeven geslachtsnamen.

De flagellate lichaampjes van ECKERSON worden als secundaire organismen beschouwd. Van extra lichaampjes gevonden bij Hippeastrum, suikerbiet en aardbei kent men de beteekenis nog niet; zij komen niet algemeen voor bij virusziekten.

Kristallijn materiaal is typisch voor „tobacco mosaic virus I" (JOHNSON). Dit materiaal wordt beschouwd als afscheidingsproduct van de vacuolen-lichaampjes; het is ook gevonden bij mozaiek en tusschennervig mozaiek van aardappel door KLEBAHN.

Van de flagellate en trypanosome-achtige lichaampjes gevonden door NELSON kan gezegd worden, dat het geen organismen zijn. KLEBAHN noemt ze „mastigoplasten" en „trypanoplasten"; microchemische reacties wijzen op een albuminoide natuur.

Of de zoogenaamde elytrosomen, door SCHAFFNIT en WEBER gezien in suikerbieten, beteekenis hebben voor de pathologie wordt betwijfeld, daar KLEBAHN dergelijke lichaampjes in gezonde planten heeft gevonden; hij noemt ze oöplasten. Ook de skolekosomen der anemonen vond hij in gezonde planten.

DUFRENOY heeft den toestand der zieke cellen van enkele plantensoorten vergeleken met die van gezonde cellen, welke in hypotonische oplossingen liggen. Of dit werk en dat van TSINEN beteekenis heeft voor de studie der virusziekten moet nog nader blijken.

INVLOED VAN DE VERSCHILLENDE ASSIMILEERENDE DEELEN OP DE KORREL-PRODUCTIE BIJ WILHELMINATARWE

DOOR

A. E. H. R. BOONSTRA



AVEC UN RÉSUMÉ EN FRANÇAIS



H. VEENMAN EN ZONEN — WAGENINGEN — 1929

Invloed van de verschillende assimileerende deelen op de korrelproductie bij Wilhelminatarwe

DOOR

A. E. H. R. BOONSTRA.

(Mededeeling uit het Instituut voor Plantenveredeling der L. H. S.)

Terwijl onze wintergranen bijna een vol jaar te velde staan, heeft de zaadvorming plaats in een tijdsverloop van eenige weken. Gedurende dit laatste deel van de levenscyclus assimileeren alleen nog de jongere organen, terwijl de onderste bladeren al verdord zijn.

De vraag dringt zich op, welk aandeel elk nog assimileerend deel heeft aan de zaadvorming. Als assimileerende organen komen alle groene deelen in aanmerking, dus niet alleen de bladeren, maar ook de stengel en de aar zelf met haar groene kafjes. Juist de overweging, dat deze groene kafjes, hoewel klein van oppervlak, wel eens een grootere rol konden spelen dan gewoonlijk aangenomen wordt, was aanleiding om te trachten door een onderzoek de rol van verschillende onderdeelen van het geheele assimilatieapparaat vast te stellen. Het vermoeden van een belangrijke rol van de kafblaadjes wordt gemotiveerd, door te bedenken, dat de in de bladeren gevormde assimilaten over een lange afstand getransporteerd moeten worden om in het zaad te komen, terwijl die afstand voor de in de kafjes gevormde producten tot een minimum beperkt is. KOSTYTSCHEW [1]) spreekt de meening uit, dat de vorm van de curve van het dagelijksch verloop van de photosynthese in de eerste plaats bepaald wordt door de afvoer van de assimilaten. Volgens hem is dus het transport van groote beteekenis voor de photosynthese.

Om het aandeel — voor zoover dit de assimilatie betreft — dat de verschillende plantendeelen hebben op de korrelvorming, vast te stellen, is het noodig deze deelen beurtelings van assimilatie uit te sluiten. Als middelen hiertoe werden gekozen: 1°. het afsnijden; 2°. het afsluiten van licht. De mogelijkheid bestaat m. i., dat bij het afsnijden van een blad, de functie hiervan voor een deel overgenomen wordt door de aangrenzende bladeren. Om deze foutenbron te verkleinen werden niet beurtelings het 1e, 2e, 3e enz. blad afgesneden,

---

[1]) O. a. Planta Bd I 1926.

maar het eerste, het 1e + 2e, het 1e + 2e + 3e enz., waarna dan door aftrekking de invloed van elk blad valt te berekenen. Bovendien werd om deze reden en ook om de invloed langs een tweede weg vast te stellen, de rol van elk blad niet alleen bepaald door het af te snijden, maar ook door het juist aan de plant te laten zitten. Dit is zeer eenvoudig te bereiken door naast de reeks, waarin telkens van boven af één blad meer wordt afgesneden, een tweede reeks te vormen, waarin telkens van onder af één blad meer wordt afgesneden. In de eerste reeks wordt de invloed van het 1e blad (ik heb de bladeren genummerd van bovenaf, met het 1e blad wordt dus bedoeld het bovenste, enz.) berekend, door te bepalen hoeveel de korrelopbrengst vermindert door het blad af te knippen; in de tweede reeks wordt de invloed van hetzelfde blad gevonden door te bepalen hoeveel de korrelopbrengst vermeerdert, als wij dit blad aan de plant laten zitten.

Bij het afschermen van licht kunnen kokers van zeer verschillende grondstof dienst doen. Na verschillende middelen geprobeerd te hebben, leek met paraffine doordrenkt karton, zooals dit in de vorm van bussen door de Gietverpakkingsfabriek te Utrecht in de handel gebracht wordt, het best te voldoen. Deze bussen hebben geen naad en zijn tegen het weer bestand, terwijl zij in willekeurige vorm en afmeting vervaardigd kunnen worden. Om de planten zoo weinig mogelijk te beschadigen en een behoorlijke luchtververschin̈g mogelijk te maken werden kokers gebruikt van 10 c.m. middellijn. Elke koker heeft een hoogte van 20 c.m. en kan over een afstand van plm. 2 c.m. over een tweede koker geschoven worden, zoodat door gebruik van 3 tot 7 kokers naar behoefte het eerste tot en met het 3e blad ingesloten kon worden. Aan de onderkant bleef de onderste koker open met het oog op de luchtververschin̈g. De hoeveelheid van beneden teruggekaatst licht werd niet bepaald, maar is zoo gering, dat ze m. i. verwaarloosd mag worden. Hoewel de kokers absoluut ondoorzichtig zijn, bleek, dat zij in het felle zonlicht toch nog iets doorschijnen. Met behulp van een dubbele laag opgerold bruin kaftpapier binnen in de koker is dit euvel geheel opgeheven. De bovenste kokers worden gedragen door de onderste, die op zijn beurt met behulp van een ijzerdraad hangt aan een latje, dat bovenop een ijzeren stang rust, die naast de plant staat en deze in hoogte iets overtreft. Het geheel wordt aan de bovenzijde omsloten door een omgekeerde koker met bodem van hetzelfde materiaal. Deze kap heeft een hoogte van 20 c.m. en een middellijn, die 2 c.m. grooter is dan die van de kokers, zoodat rondom 1 c.m. open blijft om ventilatie toe te laten. (Zie fig. 1.)

Voor het insluiten van alleen de aar werden kokers met bodem gebruikt van 6 c.m. middellijn en 15 c.m. hoogte. De wijde kokers van 10 c.m. zouden hier het licht minder goed afschermen, omdat hier de onderkant van de koker niet door de bladeren van de buurplanten beschaduwd wordt, maar boven het niveau van de bovenste bladeren ligt, waardoor de kans op binnendringen van van onderen teruggekaatst licht aanmerkelijk vergroot wordt. Om het licht dat op deze manier nog tot de aar door zou kunnen dringen te absorbeeren werden deze kokers zwart geverfd door ze in de verf onder te dompelen.

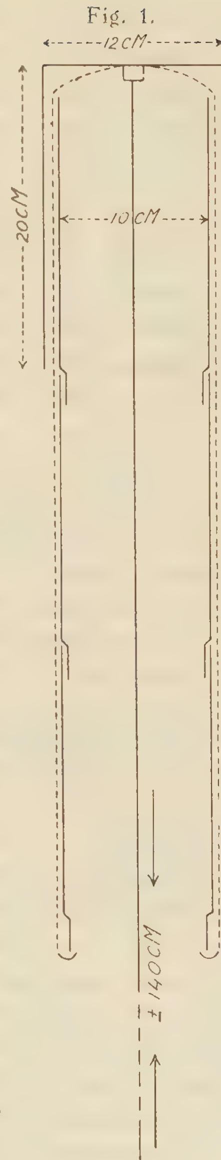


Fig. 1.

Om de bestuiving niet te beïnvloeden werd met het afschermen van het licht en het afknippen gewacht tot de bestuiving afgeloopen was.

Op 2 Juli werden nu op een groote akker met Wilhelminatarwe 1500 halmen uitgezocht van een lengte tusschen 130 en 140 c.m., zooveel mogelijk van 135 c.m. en anders op het oog af zoo gecombineerd, dat binnen elke groep het gemiddelde plm. 135 c.m. was. Verder werd ook gelet op gelijke aarlengte, maar deze werd niet gemeten, evenmin als de dikte van de halm. Om geen randplanten voor het onderzoek te gebruiken en het mooie gewas zoo weinig mogelijk te beschadigen, werden langs de twee lengtezijden van de akker planten genomen van de 3e, 4e of 5e rij van de kant. Alle uitgezochte planten hadden nog minstens 4 groene bladeren, sommige 5. Om vergelijkbaar materiaal te krijgen werden van alle planten, behalve van die groep, die als contrôle zou dienen, alle bladeren vanaf het 5e afgeknipt (niet bewaard). De 1500 planten werden verdeeld over 16 groepen als volgt:

Groep I. 100 planten, aan het begin van de proef geoogst (2 Juli).

Groep II. 100 planten, aan het eind van de proef geoogst (13 Augustus).

Groep III. 100 planten, alle bladeren afgeknipt.

Groep IV. 100 planten, 2e, 3e en 4e blad afgeknipt.
Groep V. 100 planten, 3e en 4e blad afgeknipt.
Groep VI. 100 planten, 4e blad afgeknipt.
Groep VII. 100 planten, niets afgeknipt.
Groep VIII. 100 planten, aar afgeknipt.
Groep IX. 100 planten, 1e blad afgeknipt.
Groep X. 100 planten, 1e en 2e blad afgeknipt.
Groep XI. 100 planten, 1e, 2e en 3e blad afgeknipt.
Groep XII. 100 planten, alle bladeren afgeknipt.
Groep XIII. 100 planten, aar ingesloten.
Groep XIV. 100 planten, aar + 1e blad ingesloten.
Groep XV. 50 planten, aar + 1e en 2e blad ingesloten.
Groep XVI. 50 planten, aar + 1e, 2e en 3e blad ingesloten.

Het afknippen geschiedde op de grens van bladschijf en bladscheede, zoodat de bladscheede dus aan de plant bleef zitten. De afgeknipte bladeren 1—4 werden bewaard en later meegewogen.

De bedoeling van het afknippen van de aar was, om vast te stellen of daarna nog assimilatie plaats vond.

Van elke groep groeiden 10 halmen naast elkaar en werden bij de weging als eenheid behandeld. Om bodeminvloeden zooveel mogelijk uit te schakelen was de rangschikking op het veld aldus: telkens 10 halmen van groep I, II, III .... XIII, XIV, XV, XVI, XIV, XIII .... III, II, I.

Deze reeks van 300 planten herhaalde zich 5 keer. De symmetrische opstelling aan weerszijden van de groepen XV en XVI werd gekozen om de groepen XIII—XVI, die ingesloten werden en met het oog op de wind vastgebonden moesten worden aan een lange tengellat, bij elkaar te houden. Vooropgesteld, dat de vruchtbaarheid van de bodem zich geleidelijk in één richting wijzigt, heffen deze bodeminvloeden elkaar bij zoo'n symmetrische opstelling op. Dat in werkelijkheid deze veronderstelling slechts ten deele op zal gaan, is duidelijk.

Gedurende het onderzoek werd bij de ingesloten planten nagegaan, of de halmen nog groeiden en de aar dan misschien door de kap gehinderd werd. Dit bleek niet het geval te zijn. In enkele gevallen had de wind de aar uit de koker gerukt. Deze halmen werden niet geoogst. Eveneens werden die halmen verwijderd, die aangetast waren door de halmdooder.

Bij de oogst werd gecontroleerd of de juiste bladeren waren afge-

knipt. 2 groepen van 10 waren verwisseld. Drie halmen waren onvindbaar. De nos. 691—700 (behoorend tot groep X) vielen op door hun dunne halmen.

Alle halmen, waarvan alleen de aar afgeknipt was, leken forscher dan gewoon en *zeer opvallend was bij deze planten de donkergroene kleur van de bladeren, terwijl de overige planten geelrijp waren.* Dit moet echter niet zoo opgevat worden, dat deze bladeren nog assimileerden. De brosheid en droogte van deze bladeren maakte veel meer de indruk, dat ze dood waren en dat alleen het chlorophyl geen omzetting had ondergaan, zooals bij alle andere planten. Welke het oorzakelijk verband is tusschen het verwijderen van de aar en het bewaard blijven van de groene kleur, zal nader onderzoek moeten uitmaken.

Omdat het de tweede oogstdag regende was het noodig al het materiaal op dezelfde vochtigheidsgraad te brengen, wat wel ten naastebij bereikt werd door het gedurende 24 uur bij plm. 105 gr. te drogen en daarna geruime tijd aan de invloed van de lucht bloot te stellen. Daarna werd aar voor aar uitgewreven en de korrels en de rest per groep van 10 planten apart gewogen.

DE RESULTATEN.

Deze zijn in tabel 1, bladz. 6, vereenigd. De opgegeven gewichten hebben betrekking op één halm en zijn dus het gemiddelde van ongeveer 100 (in twee gevallen 50).

Kolom II geeft de totaalgewichten. Het blijkt, dat bij alle groepen na 2 Juli de gewichten nog toenemen, maar niet overal even sterk. De gewichtstoename valt in 3 gevallen binnen 3 $\times$ de middelbare fout van het verschil.

m is berekend als $\sqrt{\frac{\Sigma a^2}{n\,(n-1)}}$.

m_D is berekend als $\sqrt{m_1{}^2 + m_2{}^2}$

D = verschil.

Gewichtstoename groep VIII 0.25 Gr. $\pm$ 0.22 $\frac{D}{m_D} = 1.1.$

" " XV 0.59 Gr. $\pm$ 0.28 $\frac{D}{m_D} = 2.1.$

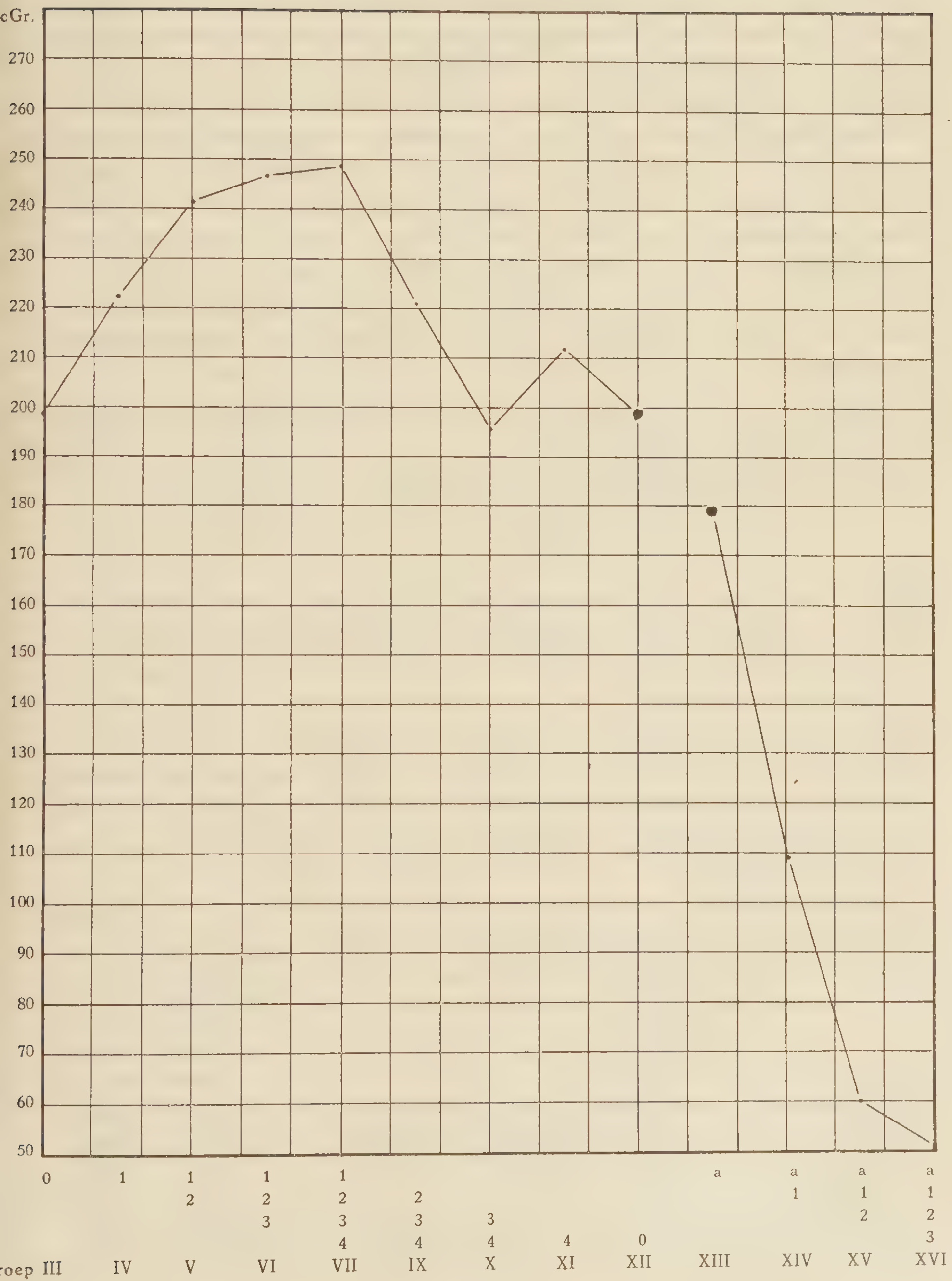
" " XVI 0.30 Gr. $\pm$ 0.30 $\frac{D}{m_D} = 1.0.$

TABEL 1. TABLEAU 1.

Kolom. (Colonne). I [1]	Totaal-gewicht. Poids total.	Gewicht stengel + blad + aar zonder zaad. Poids des tiges + feuilles + épis égrenés.	Korrelopbrengst. Poids des grains.	Idem, na uitschakeling bodeminvloed. Poids des grains, rectifié.	Invloed op korrel-opbrengst. Influence des feuilles, etc. sur la formation des grains.	$\frac{D}{m_D}$	Invloed van de verschillende deelen op de korrelopbrengst. Influence des diverses parties de la plante sur la formation des grains.	In verhouding. Proportionnellement.
	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
Groep	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.	m Gr.		m Gr.	
(Groupe) I	4.17	4.17	—	—	—	—	—	
„ VIII	4.42	4.42	—	—	—	—	aar 683	100
„ II	6.65	4.03	2.62 ± 0.11 of 4.2 %	2.622 ± 0.070 of 2.7 %	—	—	stengel tot	
„ III 0	5.96	3.97	1,99 ± 0.08 of 4 %	1,993 ± 0.054 of 2.7 %			1e bl. + sch. 1 } 457	67
„ IV 1	6.20	3.98	2.23 ± 0,076 of 3.4 %	2.226 ± 0.040 of 1.8 %	1e blad 233 ± 67.2	3.5	1e blad 255	37
„ V 1, 2	6.49	4.07	2.42 ± 0.134 of 5 5 %	2.417 ± 0.075 of 3.1 %	2e „ 191 ± 85.0	2.2	stengel tot	
„ VI 1, 2, 3	6.39	3.92	2.47 ± 0.076 of 3.1 %	2.469 ± 0.044 of 1.8 %	3e „ 52 ± 86.9	0.6	2e bl. + sch. 2 } 257	38
„ VII 1, 2, 3, 4	6.42	3.93	2.50 ± 0.128 of 5.1 %	2.486 ± 0.065 of 2.6 %	4e „ 17 ± 78.5	0.2	2e blad 223	33
„ IX 2, 3, 4	6.24	4.02	2.22 ± 0.118 of 5.3 %	2.210 ± 0.060 of 2.7 %	1e „ 276 ± 88.6	3.1		
„ X 3, 4	5.84	3.88	1.96 ± 0,109 of 5.5 %	1.956 ± 0.061 of 3.1 %	2e „ 254 ± 85.6	3.0		
„ XI 4	6.21	4.09	2.12 ± 0.065 of 3.0 %	2.120 ± 0.045 of 2.1 %	3e „ —164 ± 75.8	2.2		
„ XII 0	6.20	4.21	1.99 ± 0.074 of 3.7 %	1.989 ± 0.040 of 2.0 %	4e „ 131 ± 60.2	2.2		
„ XIII a	5.84	4.05	1.79 ± 0.056 of 3.1 %	1.803 ± 0.040 of 2.2 %	aar 683 ± 76.3	9.0		
„ XIV a + 1	5.30	4.21	1.08 ± 0.051 of 4.7 %	1.091 ± 0.045 of 4.1 %	1e bl. + st. 712 ± 60.2	11.8		
„ XV a + 2	4.76	4.17	0.59 ± 0.040 of 6.7 %	0.603 ± 0.045 of 7.5 %	2e bl. + st. 488 ± 63.6	7.5		
„ XVI a + 3	4.47	3.97	0.50 ± 0.061 of 12.3 %	0.509 ± 0.047 of 9.2 %	3e bl. + st. 94 ± 65.1	1.4		

1) De arabische cijfers in kolom 1 duiden de bladeren aan, die aan de halm zijn blijven zitten, resp. met de aar zijn ingesloten.

Fig. 2.
Korrelopbrengst.
Poids des grains.



Uit de tabel blijkt, dat door het afsnijden der aar de assimilatie zoo goed als geheel stopgezet wordt. (Het gewichtsverlies door ademhaling wordt overal buiten beschouwing gelaten, evenals mogelijke gewichtstoename door absorptie van mineralen. Zie foutenbespreking.)

Kolom III geeft het gewicht van de halm met de bovenste 4 bladeren en aar zonder korrels. Dit gewicht blijft blijkbaar vrijwel gelijk. De schommelingen zijn onregelmatig en kunnen teruggevoerd worden op ongelijkheid van het uitgangsmateriaal. Niettemin bestaat de aanwijzing dat een klein deel van de droge stof verplaatst is naar de korrel, maar met zekerheid is dit uit deze cijfers niet vast te stellen. In elk geval blijkt duidelijk, dat stengel en bladeren geen dienst doen als tijdelijke opslagplaats van voedingsstoffen, die later in de korrel afgezet zullen worden. *De assimilaten, die wij met de korrel oogsten worden dus gevormd in het laatste deel (± 5 weken) van de levenscyclus.*

Kolom IV geeft evenals fig. 2 de korrelopbrengst. Duidelijk blijkt:

1°. de betrekkelijk geringe invloed van de 4 bladeren: met 0 bladeren is de opbrengst 20 % geringer dan met alle vier bladeren;

2°. de relatief groote invloed van het 1e en 2e blad;

3°. dat de invloed van het 3e en 4e blad onduidelijk is en uit groep X en XI zelfs een negatieve waarde van het 3e blad afgeleid zou moeten worden, als deze niet binnen 3 × de foutengrens lag.

De 2 groepen zonder bladeren (groep III en XII) stemmen goed met elkaar overeen.

Uit de toegevoegde waarden voor m, vooral wanneer die wordt uitgedrukt in procenten, blijkt, dat de gemiddelden nog met een betrekkelijk groote fout belast zijn. Letten wij op het korrelgewicht in verband met de groeiplaats, dan blijkt, dat de bodeminvloed hier een groote rol speelt.

Om dit duidelijk te maken laat ik hier de volledige cijfers volgen van 2 groepen, die naast elkaar groeiden:

	Groep IV.	Groep V.		Groep IV.	Groep V.
In de 1e serie	2.147	2.602	In de 6e serie	2.684	2.910
„ „ 2e „	2.098	2.412	„ „ 7e „	*2.519*	*2.984*
„ „ 3e „	1.988	1.851	„ „ 8e „	1.881	1.824
„ „ 4e „	2.130	1.946	„ „ 9e „	2.315	2.747
„ „ 5e „	2.236	2.525	„ „ 10e „	2.277	2.417

Op de 10 verschillende standplaatsen stijgen en dalen de gewichten van beide groepen voortdurend in dezelfde zin, behalve bij de overgang van de 6e naar de 7e standplaats, waarbij in groep IV een daling en bij groep V een stijging plaats vindt.

Om de fouten, veroorzaakt door bodemongelijkmatigheden zoo goed mogelijk te verwijderen, werd het cijfermateriaal als volgt verwerkt. De totale opbrengst van de nos. 1—300 werd bepaald, daaruit het gemiddelde van een groep berekend, en de opbrengst van elke groep uitgedrukt in % van dit gemiddelde. Evenzoo werd gedaan met de nos. 151—450, 301—600, ... 1201—1500, 1351—150. Ten slotte werd voor elke groep het gemiddelde bepaald van de in % uitgedrukte waarden en dit % door middel van de gemiddelde opbrengst van alle 1500 planten, weer omgerekend in gewichten.

Deze wijze van berekening komt vrijwel overeen met het „Ausgleich-Verfahren" van MITSCHERLICH [1]) en wijkt er alleen van af: 1°. door de grootere sprongen, n.l. telkens 150 planten verder, waartoe de symmetrische opstelling van elke 2 series noodzaakten, en 2°. doordat eenvoudigheidshalve is aangenomen, dat de reeks planten een gesloten ring vormden, terwijl deze ring op de 2 smalle kanten van de akker onderbroken is.

Kolom V geeft de korrelopbrengst met de middelbare fout na het uitschakelen van de bodeminvloed. Slechts in één geval, n.l. groep XV, blijkt de bodeminvloed de onregelmatigheden uit anderen hoofde tegengewerkt te hebben. Overal elders is de middelbare fout sterk gereduceerd. Dat ook nu nog de groepen XIV, XV en XVI met een hooge fout behept zijn, is voor de laatste groepen in de eerste plaats te verklaren door het geringere aantal objecten (50 in plaats van 100) en verder voor alle drie groepen, doordat afwijkingen ten gevolge van het kiezen van ongelijkwaardig beginmateriaal, sterker tot uiting komen, naarmate daarna minder geassimileerd wordt.

In de inleiding immers werd er op gewezen, dat met het knippen en insluiten gewacht werd tot de bestuiving afgeloopen was. Hoewel zooveel mogelijk gelijke halmen uitgezocht werden is het natuurlijk mogelijk, dat bij sommige halmen de bestuiving 2 à 3 dagen eerder had plaats gevonden, dan bij andere. Dit bedraagt op een proefduur van 40 dagen een aanmerkelijk procent en geeft zoo binnen elke groep aanleiding tot onderlinge afwijkingen, die in de middelbare fout het sterkst tot uiting komen, daar waar verdere assimilatie rigoreuzer wordt onderdrukt.

---

[1]) O. a. Pflanzenbau, Jahrgang 1924/25.

Verder valt op, dat de twee groepen V en X met een m $> 3\ \%$, juist die zijn, die liggen aan weerszijden van de grens tusschen 2e en 3e blad, d. w. z. daar, waar de duidelijke invloed van het tweede blad overgaat in de twijfelachtige invloed van het 3e blad.

De invloed, die elk blad op de korrelproduktie heeft, is te zien in kolom VI en berekend als verschil uit de vorige kolom, zooals door accolades is aangegeven. Voor elk blad laat deze invloed zich tweemaal berekenen. Op het niet precies met elkaar kloppen van deze 2 waarden, alsook op de negatieve waarde van het 3e blad, zooals die bepaald is uit de groepen X en XI, kom ik later (blz. 15 en 14) nog terug.

Door het te laag uitvallen van de waarde van het derde blad in de 2e berekening, wordt natuurlijk de gevonden waarde voor het 4e blad hier te hoog. Afgezien van deze onregelmatigheid blijkt het echter duidelijk, vooral ook uit kolom VII, dat het derde en vierde blad voor de vruchtzetting heel weinig waarde meer hebben.

De invloed van de aar is berekend uit het verschil in opbrengst van groep VII en groep XIII. Het verschil in opbrengst van XIII en XIV geeft de invloed van het eerste blad met bladscheede en het daarboven liggende deel van de stengel. Uit de wijze van insluiten volgt overigens deze berekening van zelf.

Opvallend is de groote invloed, die wij volgens deze berekening moeten toeschrijven aan de aar. Ook uit de groepen XIV tot XVI volgt, dat de invloed van het 3e blad (hier zelfs met bladscheede en bovenliggend stengeldeel) zeer gering is en niet met zekerheid vast te stellen.

Uit de vergelijking van de invloed van het 1e blad (bladschijf) met de invloed van 1e blad + scheede van het 1e blad + stengel daarboven, laat zich nu nog ongeveer de invloed van bladscheede en stengel bepalen. Als invloed van het eerste blad werd genomen het gemiddelde van de twee berekende waarden.

Ditzelfde is ook nog gedaan voor de bladscheede van het 2e blad met het stengeldeel tusschen eerste en tweede blad. Deze cijfers zijn met enkele voorgaande nog eens vereenigd in kolom VIII.

De foutenberekening heb ik hier achterwege gelaten, omdat deze cijfers (verschillen van verschillen) toch geen aanspraak kunnen maken op groote betrouwbaarheid. Om echter een aanduiding te krijgen van de relatieve waarden van de verschillende assimileerende deelen heb ik de onderlinge verhouding in cijfers uitgedrukt (laatste kolom), waarbij de invloed van de aar op 100 is gesteld.

De korrelopbrengst van een halm wordt bepaald door het aantal korrels van de aar en het gewicht van die korrels. Daaruit volgt, dat

bij een gedeeltelijke verhindering van de assimilatie de opbrengstvermindering gepaard kan gaan met de vorming van een kleiner aantal korrels en met de vorming van lichtere korrels. Aan het kleine, verschrompelde zaad van de groepen XIV, XV en XVI is zeer duidelijk te zien, dat de geringe opbrengst van deze groepen voor een groot deel veroorzaakt wordt doordat deze korrels te weinig assimilaten toegevoerd kregen om het normale gewicht te bereiken. Bij de groepen met afgesneden bladeren is dit niet met zekerheid te zeggen. Om vast te kunnen stellen of de kleinere opbrengst alléén veroorzaakt wordt doordat de korrels hun normaal gewicht niet bereiken, zijn de korrels van alle groepen geteld. De volgende tabel geeft het gemiddelde aantal zaden per aar van elke groep en het gemiddelde gewicht van één korrel:

TABEL 2. TABLEAU 2.

			Aantal zaden per aar. Nombre moyen des grains d'un épi.	Gemiddeld gewicht van 1 korrel in m.G. Poids moyen d'un grain.
Groep	II	Normaal	63.8	4.1
„	III	0	57.6	3.5
„	IV	1	59.1	3.8
„	V	1, 2	61.7	3.9
„	VI	1, 2, 3	60.1	4.1
„	VII	1, 2, 3, 4	61.7	4.0
„	IX	2, 3, 4	60.6	3.6
„	X	3, 4	57.0	3.4
„	XI	4	58.1	3.6
„	XII	0	57.7	3.4
„	XIII	a	57.3	3.1
„	XIV	a + 1	49.8	2.2
„	XV	a + 1, 2	48.0	1.3
„	XVI	a + 1, 2, 3	44.8	1.1

Hieruit blijkt, dat in het algemeen met grootere belemmering van de assimilatie, het aantal korrels per aar afneemt en eveneens het gewicht per korrel. Beide factoren, aantalvermindering en gewichtsvermindering per korrel werken dus samen, maar procentsgewijs heeft de laatste de meeste invloed.

Nu is nog wel in 't oog te houden, dat op het aantal korrels per aar niet alleen de meer of minder groote belemmering van de assimilatie invloed heeft, maar ook het uitgangsmateriaal. Het spreekt vanzelf, dat niet alle 1500 uitgezochte halmen bij het begin van de proef hetzelfde aantal vruchtbeginsels per aar bevatten, maar omgekeerd is het sterk uiteenloopen van het aantal zaden per aar (van 63.8 tot 44.8) toch zeker niet enkel toe te schrijven aan het uitgaan van ongelijkwaardig materiaal. Daartegen spreekt trouwens ook het heele verband, dat er bestaat tusschen het geringer worden van het aantal zaden, naarmate de assimilatie meer gehinderd wordt. Veel meer geven de aantallen zaden per aar een aanwijzing voor de verklaring, waarom de opbrengst van groep II zoo extra hoog en die van groep X zoo extra laag is. In de tabel springt n.l. groep II naar voren met een abnormaal hoog aantal zaden per aar, terwijl groep X (met 3e en 4e blad) zelfs nog onder de groepen III en XII blijft, waarvan alle bladeren zijn afgeknipt. Waarschijnlijk zijn dus bij toeval in groep II halmen terecht gekomen met in doorsnee sterkere en in groep X met in doorsnee zwakkere aren.

FOUTENBESPREKING.

Van de fouten, die het onderzoek in deze vorm nog aankleven, wil ik de m. i. belangrijkste hier nog even kort bespreken.

De ademhaling is moeilijk in rekening te brengen en werd overal buiten beschouwing gelaten. Deze is ook uit de aard der zaak gering ten opzichte van de assimilatie, terwijl voor de praktijk ook slechts het surplus van de assimilatie boven de ademhaling waarde heeft. Wel moet echter bedacht worden, dat bij het afknippen zoowel ademhaling als assimilatie verhinderd worden, terwijl bij het insluiten de ademhaling door kan gaan. Bij het vergelijken van ingesloten halmen en halmen met afgeknipte bladeren wordt dus de invloed van de bladscheede en de stengel iets te hoog gevonden.

Van de *absorptie* is vrijwel hetzelfde te zeggen, echter zal de gewichtstoename door het opnemen van mineralen in dit laatste deel van de levensperiode wel zeer gering zijn. Bekend is, dat door *verwonding* (afknippen) de ademhaling in het algemeen stijgt, d. w. z. dat dus de invloed van de bladeren in werkelijkheid nog kleiner is, dan ze hier werd bepaald.

Met het afknippen der bladeren worden niet alleen assimilatie en ademhaling voor de afgeknipte organen belet, maar wordt ook de transpiratie en daardoor de „transpiratiestroom", van het daaronder

liggend stengeldeel verminderd. Misschien moeten wij hierin voor een deel de verklaring zoeken, voor de verschillen tusschen de dubbele bepaling van de invloed van elk blad.

Inderdaad vinden wij de invloed van de beide bovenste bladeren grooter, als deze bladeren afgeknipt worden (groep IX enz.), dan wanneer ze aan de stengel blijven zitten (groep IV en V).

Bij het insluiten wordt de kans op fouten grooter. Op de mogelijkheid van het van onderaf binnendringen van een zeer geringe lichthoeveelheid werd reeds gewezen. *Verder kan het onttrekken van licht ook op andere processen dan de assimilatie van invloed zijn* en kan de vochtigheid binnen de koker te groot worden, doordat de ventilatie, ondanks de genomen voorzorgen, niet voldoende is. Ook de temperatuur kan binnen de koker te hoog stijgen. Hierover heb ik op een paar uitgezocht zonnige dagen nog enkele waarnemingen gedaan bij verschillende planten, door van 2 thermometers de een in, de ander achter de koker te plaatsen. De waarnemingen op 18 Juli laat ik hier volgen:

Tijd:	Binnen de koker:	Er buiten:
8.40	19 gr.	18 gr.
10	22.5 „	21.5 „
11 (andere koker)	24.5 „	22 „
12	25 „	23 „
2.15 (andere koker)	25 „	24 „
3.05	24 „	23 „
4.05 (andere koker)	27 „	25 „
5	25 „	25.5 „

Telkens werd na twee waarnemingen overgegaan tot een andere koker. De juiste nummers zijn tot mijn spijt niet genoteerd.

Hoewel de temperatuur binnen de kokers dus inderdaad hooger is, is dit verschil toch niet zoo belangrijk, dat het van groote invloed op de vastgestelde cijfers zal zijn.

Ook op de foutenberekening zijn aanmerkingen te maken. Op het beschouwen van de twee lengterijen van planten als een aaneengesloten cirkel wees ik reeds. Tot deze fout liet ik mij gemakshalve bewust verleiden, omdat in het geheel geen rekening gehouden kon worden met de lengte van de perceelen (de rijen van 10). Uit de aard van de zaak

kregen de halmen bij het uitzoeken op gelijke lengte enz. niet onderling dezelfde afstand, terwijl bovendien, voorzoover het de korrelgewichten betrof, de groepen I (vooraf geoogst) en VIII (aar af) ook aanleiding waren tot hiaten in de rij.

Verder berustten de gegevens van enkele groepen op 8 of 9, de meeste op 10 halmen, hoewel zij bij de vergelijking van het cijfermateriaal als gelijkwaardig werden beschouwd.

Dat de middelbare fout bij een andere opstelling en berekening nog aanmerkelijk verkleind kan worden, b.v. door het wegen van elke halm apart, is duidelijk. Voor een enkel geval heb ik, om een idee te krijgen van de waarde van de belangrijk vergroote arbeid, dit doorgevoerd bij 48 planten van groep II en vind dan:

In groepen van 10	M = 2.590	m = ± 0.141 of 5.4 %.
Alle 48 apart	M = 2.594	m = ± 0.074 of 2.9 %.

Van de vele mogelijke fouten lijkt mij die, veroorzaakt door het uitgaan van niet precies gelijkwaardige halmen, de grootste; en de belangrijkste onregelmatigheden n.l. de invloed van het 3e blad (in één geval negatief) en de extra hooge opbrengst van de contrôle (groep II), schrijf ik dan ook in hoofdzaak hieraan toe. Uit het bovenstaande blijkt voldoende, dat de gegeven cijfers als zoodanig niet absoluut juist zullen zijn, maar ik meen toch gerechtigd te zijn de algemeene conclusie te trekken:

1°. dat de met het zaad geoogste assimilaten in een tijdsverloop van eenige weken gevormd worden;

2°. dat de aar een veel grootere invloed heeft op de opbrengst, dan gewoonlijk aangenomen wordt;

3°. dat de invloed van de bladeren en wel vooral vanaf het derde blad (na de bloei) gering is en gewoonlijk overschat wordt.

Deze conclusies deden mij in verband met hun belangrijkheid besluiten reeds nu tot publicatie van deze mededeeling over te gaan ondanks het voorloopig karakter, dat een niet herhaald onderzoek altijd draagt. Het doel van de publicatie is dan ook enkel de aandacht te vestigen op deze kwestie in de hoop, dat ook anderen een deel van hun krachten eraan zullen wijden, om daardoor spoedig te komen tot oplossing van de vraag in hoeverre het verkregen resultaat van algemeene geldigheid is.

LITERATUUR.

Veel litteratuur schijnt over dit onderwerp niet te bestaan. Tot dusver heb ik zonder systematisch zoeken (jammer genoeg ontbreekt nog steeds een algemeene catalogus van botanische litteratuur, en is die van ons Instituut, meer speciaal voor litteratuur over landbouwgewassen, nog zeer onvolledig door gebrek aan werkkrachten) slechts een viertal publicaties ontmoet, die op hetzelfde of een nauw verwant onderwerp betrekking hebben.

Het oudste is dat van DEHERAIN en DUPONT in 1901 (Comptes Rendus blz. 774—778: Sur l'origine de l'amidon du grain de blé).

Deze onderzoekers werkten met afgesneden aren en een deel van de stengel, die zij in een afgesloten ruimte in het zonlicht plaatsten, om aan de wijziging van het CO_2 gehalte uit te maken of geassimileerd wordt of niet. Zij vinden dan, dat de aar niet assimileert, maar wel en sterk, het vlak daaronder liggend stengeldeel. Snijden zij enkel de aar af, dan blijkt na eenige tijd een ophooping van zetmeel te hebben plaatsgevonden in het zich daaronder bevindende stengeldeel. Hun resultaat (verkregen volgens geheel andere methode) wijkt sterk van het mijne af.

LUBIMENKO (Rev. gen. de Bot XXII, 1910) heeft de invloed nagegaan van het licht op de vruchtvorming. Hij sluit kort na de bevruchting, de bloemen van zijn objecten (± 10 plantensoorten) in met papieren zakken (verschillend aantal lagen en wit of zwart) en vindt dan, dat getemperd licht grootere opbrengst geeft, dan daglicht of complete duisternis. Bij het begin van de vruchtvorming is licht volgens hem absoluut noodzakelijk en dit schrijft hij toe aan de vorming van diastase, die zonder licht te gering is.

Resumeerend zegt hij (p. 174): „L'embryon, après avoir passé le début de son développement à la lumière, c'est-à-dire, après avoir fait une certaine réserve d'enzymes, suivant notre hypothése, peut se développer ensuite même à l'obscurité. Mais cependant, à l'obscurité, la production de la substance sèche chez le fruit est sensiblement inférieure à celle que l'on obtient à la lumière du jour. En outre, le nombre des graines, normalement développées dans les fruits privés de lumière après le début de leur formation, est sensiblement moindre que celui obtenu dans les fruits éclairés. .... L'absence de lumière se manifeste par une croissance relativement faible." Op deze algemeene conclusie vindt schr. één uitzondering en dat is merkwaardig genoeg juist Triticum vulgare. Hiervan zegt hij:

„Chez le Triticum vulgare le poids sec des fruits enfermés dans les sacs noirs est un peu supérieur à celui des fruits qui ont mûri à la lumière du jour."

Door een herhaling van het onderzoek hoop ik de invloed van de aar op de korrelopbrengst nog eens vast te stellen en dan meteen uit te maken of de door mij gevonden invloed een gevolg is van de assimilatie of een andere oorzaak moet hebben. Uit het feit, dat de opbrengst door het afknippen van alle bladeren slechts 1/5 daalt, blijf ik voorloopig aannemen, dat de aar een behoorlijk kwantum organische stoffen vormt door assimilatie.

De betrekkelijk geringe invloed van de bladschijven is ook vastgesteld door KIESELBACH (Winterwheat investigations, Research Bull. 31. Un. Nebraska p. 118).

Gedurende 4 jaar heeft schrijver bij Turkey winterwheat de bladeren afgesneden bij de ligula resp. 3, 10 en 17 dagen na de bloei en vindt dan als gemiddelde van die vier jaar (elk jaar 2 duplo's):

bladeren af 3 dagen na bloei	...... 28.6	bushels per acre
„ „ 10 „ „ „	...... 32.7	„ „ „
„ „ 17 „ „ „	...... 35.5	„ „ „
contrôle	.... 36.8	„ „ „

Van bloei tot rijpheid verliepen 28 dagen.

Ook hier is dus de opbrengst door het afknippen der bladeren kort na de bloei met 22 % vermindert, wat heel goed in overeenstemming is met mijn resultaat: door het afknippen vermindert de korrelopbrengst met 20 %.

Ten slotte wijs ik nog op een publicatie van VAN DE SANDE BAKHUYZEN (Plant Physiology III. 1928), die aantoont, dat bij een zomertarwe (Hard Federation) tijdens de bloei alle bovengrondsche deelen in de tijd van een paar dagen sterk achteruitgaan in vochtgehalte. Daarbij is het vochtverlies het grootst bij de onderste bladeren, maar bedraagt toch ook voor de aar nog meer dan 15 %. Opvallend is echter, dat daarna het vochtgehalte bij de aar weer toeneemt en de vroegere hoogte weer bereikt, terwijl dan van een toename van het vochtgehalte in de bladeren geen sprake is. Ook dit wijst er op, dat vanaf de bloei de rol van de bladeren sterk in beteekenis afneemt.

L'INFLUENCE DES DIVERSES PARTIES VERTES DU BLE WILHELMINA SUR LA PRODUCTION DES GRAINS.

Deux ou trois jours après la pollinisation, j'ai choisi dans un grand champ de blé, 1500 tiges d'une longueur comprise entre 1 m. 30 et 1 m. 40 et aussi semblables que possible. Je n'ai pris de tiges que dans les 3e, 4e et 5e lignes, suivant les deux grands côtés du champ.

Les 1500 tiges ont été traitées comme suit:

Groupe I	(100 plantes):	récolté au début de l'expérimentation (2 juillet).
Groupe II	(100 plantes):	récolté à la fin de l'expérimentation (13 août).
Groupe III	(100 plantes):	toutes les feuilles coupées le 2 juillet.
Groupe IV	(100 plantes):	toutes les feuilles coupées, excepté la première d'en haut (1), (le 2 juillet).
Groupe V	(100 plantes):	toutes les feuilles coupées, excepté 1, 2 (le 2 juillet).
Groupe VI	(100 plantes):	toutes les feuilles coupées, excepté 1, 2, 3 (le 2 juillet).
Groupe VII	(100 plantes):	toutes les feuilles coupées, excepté 1, 2, 3, 4 (le 2 juillet).
Groupe VIII	(100 plantes):	tout l'épi coupé, le 2 juillet.
Groupe IX	(100 plantes):	toutes les feuilles coupées, excepté 2, 3, 4 (le 2 juillet).
Groupe X	(100 plantes):	toutes les feuilles coupées, excepté 3, 4 (le 2 juillet).
Groupe XI	(100 plantes):	toutes les feuilles coupées, excepté 4 (le 2 juillet).
Groupe XII	(100 plantes):	toutes les feuilles coupées, le 2 juillet.
Groupe XIII	(100 plantes):	l'épi enfermé dans une gaine opaque (le 2 juillet).
Groupe XIV	(100 plantes):	l'épi + la première feuille enfermés (le 2 juillet).
Groupe XV	(50 plantes):	l'épi + 1, 2 enfermés, le 2 juillet.
Groupe XVI	(50 plantes):	l'épi + 1, 2, 3 enfermés, le 2 juillet.

Les gaines étaient en carton imprégné de paraffine pour mieux résister au mauvais temps. Chaque gaine se composait d'une boîte renversée de 20 c.m. de hauteur sur 12 c.m. de diamètre et d'un nombre variable de cylindres de 20 c.m. $\times$ 10 c.m., se recouvrant l'un l'autre sur 2 c.m. de longueur (fig. 1). Il y avait de la sorte deux ouvertures pour l'aération, l'une supérieure annulaire, l'autre inférieure. La quantité de lumière refléchie de bas en haut était négligeable pour les groupes XIV, XV et XVI; pour le groupe XIII on employait une boîte de 15 c.m. $\times$ 6 c.m., peinte en noir à l'intérieur.

Les feuilles des groupes III—VII et IX—XII ont été coupées au niveau de la ligule. On les a séchées et plus tard jointes à la récolte. Toutes les feuilles au dessous de la quatrième, ont été énlevées le 2 juillet.

Les plantes de chaque groupe étaient réparties régulièrement dans le champ, 10 par 10. Chaque dizaine a été prise comme unité dans la détermination du poids de la récolte.

Les résultats de l'expérience ont été réunis dans le tableau 1 (page 8). Tous les chiffres se rapportent aux plantes desséchées à 105° C.

La colonne 2 donne les poids totaux au moment de la récolte (pour le groupe I 2 juillet, pour les autres groupes 13 août).

Il est évident que les plantes des groupes VIII, XV et XVI n'ont poussé que très faiblement après leur traitement.

On voit dans la colonne 3 le poids de l'ensemble: tiges, feuilles et épis égrenés. Les chiffres montrent des variations provenant des inégalités inévitablement là dès le point de départ. Il n'y a pas une réduction du poids des tiges au profit des grains, ou, du moins, ce profit est très faible. En d'autres termes: la tige ne joue pas à l'égard des grains le rôle de réservoir, et tout le matérial des grains est constitué en 5 à 6 semaines.

La colonne 4 (voir aussi fig. 2) donne le poids des grains avec l'erreur moyenne calculée d'après la formule

$$m = \sqrt{\frac{\Sigma\, a^2}{n\ (n-1)}}$$

ainsi que le pourcentage d'erreur. C'est surtout à l'influence du sol qu'est due une si grande erreur. En éliminant cette influence du sol, conformément à la méthode de MITSCHERLICH („Ausgleichverfahren") nous obtenons les chiffres de la colonne 5.

L'influence exercée par les diverses parties de la plante sur la formation des grains s'obtient par soustraction (colonne 6, ${}^{m}D$ calculé comme $\sqrt{m_1^2 + m_2^2}$); celle des feuilles se calcule de deux manières: 1. la feuille étant fixée à la tige, 2. la feuille étant coupée.

La colonne 7 montre que les feuilles 3 et 4 n'ont pas une influence certaine. La discordance des 2 déterminations pour les feuilles 1 et 2 doit être probablement attribuée à l'effet différent exercé sur l'ascension de la sève, suivant que l'on supprime les feuilles les plus hautes ou les feuilles les plus basses.

L'importance de l'épi est très nette; de même celle des feuilles 1 et 2, y compris leurs gaines et une partie de la tige, comme il résulte de l'examen des groupes XIV et XV. L'influence de la 3e feuille n'est pas certaine.

On voit dans la colonne 8 que le résultat de l'influence de l'épi est de 683 mgr., celui de l'influence de la portion de tige comprise entre l'épi et la première feuille (y-compris la gaine de cette feuille) de 457 mgr., celui de l'influence de la 1e feuille de 255 mgr., celui de l'influence de la portion de tige comprise entre les 1e et 2e feuilles (y-compris la gaine de la 2e feuille) de 257 mgr., celui de l'influence de la 2e feuille de 223 mgr. Ces chiffres n'ont pas la prétention d'être rigoureusement exacts, mais ils montrent avec assez d'approximation que les parties précitées agissent sur la formation des grains suivant les chiffres 100, 67, 37, 33 (colonne 9). (Admettant que l'influence de l'épi soit 100.)

Il ressort du tableau 2 que la réduction de la récolte pour les plantes traitées est due:

1. à la réduction du poids des grains;
2. à la réduction du nombre des grains.

Il indique aussi que la récolte élevée du Groupe II et la récolte faible du Groupe X sont probablement dues à l'état différent des plantes, au début de l'expérimentation.

De cette étude nous pouvons tirer les conclusions suivantes:

1. l'épi forme une quantité considérable de principes utilisables (sans doute parce que la migration de l'épi aux grains est très rapide);
2. dans les dernières semaines précédant la maturité les feuilles n'ont pas l'importance qu'on leur attribue généralement.

10 April 1929.

ON THE ACCURACY OF ELECTROMETRIC AND COLORIMETRIC METHODS FOR DETERMINING P_H VALUES OF SOILS

BY

W. A. J. OOSTING

AGRICULTURAL ENGINEER.

ASSISTANT GEOLOGICAL LABORATORY, AGRICULTURAL UNIVERSITY, WAGENINGEN (HOLLAND).

On the accuracy of electrometric and colorimetric methods for determining P_h values of soils, by W. A. J. Oosting

Agricultural Engineer, Assistant Geological Laboratory, Agricultural University Wageningen (Holland).

As the knowledge of the P_h value became of interest for geologists, studying the formation of soils, some years ago I determined the value of a number of Indian limestone-soils. A monograph on the genesis of these soils has been published by Prof. J. VAN BAREN, who also collected most of the samples examined, during his agrogeological journey in 1916 and 1917 (**12, Landbouw** 4, 4, 1928, 200).

The determination of the hydrogen ion concentration of soils being still attended with many difficulties, and moreover the merits of the methods in use not being well known, I found it necessary not only to use the standard hydrogen electrode, but to try other methods as well.

In this way, it was possible to get an idea of the merits of those methods, *applied to this type of soil.* For though many investigators are convinced of the efficiency of the colorimetrical methods, or of the quinhydrone method, there is not always a sufficient basis for this conviction.

The P_h values obtained for Indian limestone-soils will show that many variations may occur between the results of the different methods, even when one works with one type of soil.

SOILS.

The following soils were examined:

91*b*. Dark-brown soil with a little fragments of limestone. Railway-station Tagok Apu at the railway Bandung—Tjiandjur (West-Java).

101*b*. Brown loam with fragments of limestone. Gunung Tjibodas, N.W. of Buitenzorg. (West-Java).

102. The same loam as 101*b*, but removed by pluvial erosion and accumulated at the foot of the hill.

105*a*. Light-brown soil, with iron-concretions, sub-soil. N.E. of Buitenzorg, in the neighbourhood of Tjiteureup (West-Java).

105*b*. Yellow soil, surface-soil. Locality = 105*a*.

108*b*. Grey soil. Parakan terus, N.W. of Purwakarta (West-Java).
145*b*. Brown-yellow loam, Foot of the Gunung Kromong in the neighbourhood of Cheribon (West-Java).
244*b*. Grey soil with a great many small fragments of the rock, with concretion. Christmas-Island, in the neighbourhood of Dolly Beach.
245. Grey soil, Christmas-Island, Giants Well.
246. Grey soil with many concretions. Christmas-Island, in the neighbourhood of Dolly Beach.
320*a*. Grey, sandy limestone-soil, sub-soil. Forest-division Manggar, Residency Semarang. (Central-Java).
320*b*. Black-grey loamy soil, surface-soil. Locality = 320*a*.
321*a*. Grey soil with brown spots, sub-soil. Locality = 320*a*.
321*b*. Grey-black soil, surface-soil. Locality = 320*a*.
322*b*. Light-grey, loamy soil. W. of Gundih, S.W. of Purwodadi. (Central-Java).
323. Black-grey clay. Locality = N°. 322*b*.
324. Loam, surface-soil, burnt, because the vegetation was often destroyed by fire. Locality = N°. 322*b*.
335*b*. Grey-black soil, sub-soil, with some fragments of the limestone. Redjoso, W. of Djokja. (Central-Java).
335*c*. Black-grey soil, surface-soil, with fragments of the limestone. Locality = 335*b*.
535*a*. Yellow-brown soil with many fragments of limestone, sub-soil. Bunder, along the road from Piungan te Wonosari. (Central-Java).
535*b*. Brown soil with a crumble structure. Locality = 535*a*.
535*c*. Black soil, with a quantity of humic matter. Locality = 535*a*.
538. Brown-yellow loam, 9 K.M. W. of Grobogan, N. of Purwodadi, (Central-Java).
539. Brown-yellow loam. Locallity = 538.
546*a*. Grey loam, sub-soil. S. of the little village Ngliron, N.E. of Randu-Blatung. (Central-Java).
546*b*. Black-grey loam with a crumble structure, surface-soil. Locality = 546*a*.
548*b*. Light-yellow soil with many fragments of limestone, sub-soil. In the neighbourhood of Tjabak. (Central-Java).
549. Grey and hard clay with calcareous concretions. Locality = 548*b*.
550. Grey clay. Nglebur, S.E. of Blora. (Central-Java).

551*b*. Brown-red sandy loam. Locality = 548*b*.
552. Red, sandy soil. Locality = 548*b*.
553. Brown-red, sandy loam. Forest-division Ledok, S.E. of Blora. (Central-Java).
557. Brown-red, fine-sandy loam. Gg. Lasem, E. of Rembang. (Central-Java).
566. Darkbrown clay. In the neighbourhood of Suroh-djolok, E. of Kreteg. (Central-Java).
567. Brown-yellow clay. Locality = 566.
568. Brown-red clay. Locality = 566.
569. Brown-black, stiff clay. In the neighbourhood of Wonosari, (Central-Java).
707*b*. Black soil with many fragments of coral-limestone. Pulu Pandjang, coral-island, W. of Djapara. Res. Semarang. (Central-Java).
728*a*. Grey-yellow clay, sub-soil. Along the road Pamekasan—Tamberu, N. of Pamekasan, Isle of Madura.
728*b*. Grey soil, with plant-remains, surface-soil. Locality = 728*a*.
729*a*. Yellow clay, sub-soil. N. of Bulang, along the road Sampang—Ketapang, Isle of Madura.
729*b*. Crumble clay, surface-soil. Locality = 729*a*.
730. Brown-red, sandy loam. In the neighbourhood of Ketapang, N. coast of the isle of Madura.
744*b*. Red clay with some fragments of limestone. Bitoni, near bivouac Oilolok, Isle of Timor.
745*b*. Red clay with grey spots. Fatu-Ino, in the neighbourhood of Niki-Niki, Isle of Timor.
746*b*. Dark-grey clay, sub-soil. Baun (Baoen), district Amarassi, Isle of Timor.
746*c*. Grey-black soil, surface-soil. Locality = 746*b*.
747. Grey-black soil. Niki-Niki, Isle of Timor.

The numbers are those of the Geological Museum at Wageningen (director Prof. J. VAN BAREN).

METHODS.

The methods used are:

1. Electrometric measurement of the suspensions with the hydrogen electrode.
2. Electrometric measurement of the suspensions with the quinhydrone electrode.

3. Electrometric measurement of the suspensions with the antimony electrode (**37, 59, 75**.)

4. Colorimetric measurement of the filtrates.

5. Colorimetric measurement of the centrifugates.

6. Colorimetric measurement of the dialysed liquid.

7. The Comber method as modified by HISSINK (**35, 46, 47**).

The suspensions were prepared by electrically stirring during twenty minutes one part of soil (passed through a 2 m.m. mesh sieve) and two parts of distilled water.

Then the suspensions were allowed to stand for twenty-four hours, after which they were stirred again during twenty minutes.

One part of the suspension was used for the hydrogen electrode, another part for the quinhydrone electrode, a third part for the preparation of the filtrate, the remainder being centrifuged.

For the antimony electrode new suspensions were prepared.

As a hydrogen electrode I used a platinized piece of Pt wire.

The electrode vessel consisted of a U-shaped tube having a wide leg and a small one.

In the wide tube the suspension was poured, the hydrogen entered, and left this part of the apparatus through very small tubes, the Pt electrode being dipped in the liquid in the wide tube.

The narrow part of the U-tube was used for establishing the connection with the calomel-half cell by means of an agar-gelatine-potassiumchloride tube, which dipped in a vessel which contained saturated K Cl solution.

I used streaming hydrogen, generated from sulfuric acid and zinc.

Special care was taken that hydrogen always flowed at a sufficient rate.

The hydrogen stirred the suspension, and was purified by washing it by means of solutions of basic leadacetate, $AgNO_3$, $KMnO_4$ + H_2SO_4, and alkaline pyrogallic solution.

Many determinations could be made before replatinizing the hydrogen electrode was necessary, and abrasion by sandy soils proved of little importance.

The quinhydrone electrode consisted of a simple Jena beaker in which a peace of platinum wire was dipped, a glass screw, electrically driven, being used for stirring.

The antimony electrode consisted of a rod 6 m.M. in diameter, obtained by pouring molten Kahlbaum antimony into a pyrex tube.

The electrode was polished, and took on a very bright finish, but gradually tarnished during use.

The same apparatus was used as for the quinhydrone electrode, but another KCl-agar-gelatine tube was used.

KOLTHOFF and HARTONG report, that between P_h 5.0 and 9.0 no equation can be given for this electrode (59). I made my calculations after a great number of determinations on buffer mixtures.

The P_h values of the buffer mixtures were checked with the hydrogen-electrode, and the antimony readings were gathered in a table. When using this electrode I worked at 14° C. Readings were made during agitation.

From the Millivoltreadings on biphtalate NaOH, bifosfate NaOH, and boric-acid KCl NaOH mixtures I calculated the following equations:

$$\text{From } 4.0 - 4.7 \; P_h = \frac{E + 0{,}0416}{0{,}0629}$$

$$4.7 - 5.5 \; P_h = \frac{E - 0{,}0236}{0{,}0488}$$

$$5.5 - 7.4 \; P_h = \frac{E - 0{,}0467}{0{,}0447}$$

$$8.0 - 9.5 \; P_h = \frac{E + 0{,}0967}{0{,}0607}$$

Between 7.4 and 8.0 the function is not stable and it is not allowed to calculate a formula for this range.

The formula's do not agree with those given by KOLTHOFF, nor with the formula of FRANKE and WILLAMAN. The latter authors however worked at 25°, whereas KOLTHOFF worked also at a room of 14° C.

A special study will be necessary to investigate the causes of these discrepancies. As to other phenomena concerning the use of the antimony electrode, I point to a paper on this subject which I intend to publish within short.

The saturated calomel half-cell was used, and gave constant values when checked from time to time against a hydrogen electrode in standard solutions.

In the beginning I made my readings with a capillary electrometer, later on I used a flip-flop galvanometer of Leeds and Northrup.

I employed the Poggendorf compensation method, and used a „Walzenbrücke nach Kohlrausch" as potentiometer.

The quinhydrone was prepared by turning a solution of ferric ammonium alum into a warm solution of hydroquinone in water, after

which the fine needles were washed many times with cold distilled water.

When using the hydrogen electrode, readings were made every five minutes, and the potential was considered constant, when the same reading was obtained three times. Usually these determinations asked half an hour, with acid soils, and at least 45 minutes with alcaline ones. When using the quinhydrone electrode readings were made every minute, and constancy was practically obtained, when three equal readings were made in succeeding minutes. Nearly always this electrode required less than 10 minutes for constancy.

On general the antimony electrode gave constant potentials after 30 secunds, the P_h values are taken from readings after two minutes.

The Standard buffer solutions were prepared according to CLARK and LUBS. I used mixtures of Kbiphtalate and HCl, Kbiphtalate and NaOH, Kbiphosphate and NaOH, boric acid KCl and NaOH.

The standard mixtures were checked electrometrically by the hydrogen-electrode.

I made use of the following indicators: phenol red, bromphenol blue, cresol red, bromcresol purple, methyl red, thymol blue, bromthymol blue.

The solutions of the CLARK and LUBS indicators were prepared by dissolving 0,100 gram of indicator in 20 c.c. of hot alcohol, diluting the solution with distilled water to 100 c.c.

0,2 gram of methylred was dissolved in 6 c.c. of alcohol and diluted with water to 100 c.c. **(57)**.

The filtrates were obtained by filtering the suspensions through Swedish paper **(63)**.

The centrifugates were prepared by centrifuging for one hour at the rate of 3500 revolutions p. minute.

The dialysis was executed according to the specifications of I. M. KOLTHOFF **(56)**.

20 grams of soil were mixed with 15 c.c. of distilled water, in a pleated „filter" of parchment paper. This mixture was placed in a cup-shaped glass, containing 7 c.c. of distilled water.

After leaving this alone for 24 hours the P_h value of the diffusate was determined colorimetrically.

Concerning this method I beg to observe that neither the determinations published by KOLTHOFF, nor those communicated in this paper were executed by means of old parchment membranes. The bad correlation between the three methods, in the paper of KOLTHOFF

cannot be due to the second reason, suggested by PIERRE and PARKER (67 p. 402).

When working colorimetrically always two drops of indicator were added to 5 c.c. of soil solution.

When two indicators were used, and a small difference was found, I always noted that value which was in nearest conformity with the P_h of the electrometric measurement.

The Comber-Hissink liquids were obtained from Dr. HISSINK'S laboratory.

RESULTS.

Table I gives the results of the determinations.

Most of the soils were alcaline. As an exception, soils which were acid, contained some $CaCO_3$.

I calculated for each P_h value, found electrometrically, the deviations which occurred, when I used other methods.

Of course the number of determinations for each P_h value is very small. Yet some conclusions may be drawn.

The deviations are reported in table II.

Table III reports the frequency of the different deviations.

In the alcaline range the quinhydrone method gave lower results than the hydrogen one. Yet also positive deviations occurred in the alcaline soils.

The antimony electrode has given rather good results, differing however less or more from the standard electrode.

If the P_h values of the antimony electrode are calculated from potentiometer readings after two minutes, without stirring, a much better agreement is obtained with the values indicated by the hydrogen electrode. Remarkably the P_h values determinated during stirring are in general in a rather good agreement with those found colorimetrically.

I calculated my P_h values from a table obtained with stirred buffer mixtures. Perhape it were better to use for unstirred soilwater mixtures a special table obtained on unstirred buffer mixtures. The millivolt readings of this table may be lower than those of the table used, so that the P_h values are still higher than those mentioned in table III.

The values obtained by the colorimetric methods gave, especially when the P_h of the hydrogen electrode was above 6.6, much greater deviations than those obtained by the quinhydrone method.

According to table V the great deviations are found in the colorimetric determinations, the small ones in the quinhydrone values. Practically the deviations of the different colorimetric methods were of the same order.

Only once the colorimetric method gave a positive deviation, while the quinhydrone method produced 14 positive deviations.

With acid soils good results were obtained as well by the quinhydrone method as by the colorimetric methods.

P_h values above 7.6 are seldom found colorimetrically.

Later on it will be discussed whether the higher P_h values of alcaline soils, as indicated by the hydrogen electrode are due to errors of the hydrogen method or to errors of other methods.

Table I, which gives also the results of the hydrogenion determinations by means of the Comber-Hissink method proves that this method may be used for an approximate taxation.

Perhaps it would be better to replace 5.5—6 by 6.0—7.5 when using this method.

From tables II and III one may conclude that after two days the equilibrium has not always been attained.

The cause of this phenomenon is perhaps to be found in the changes in consequence of the long time the soils have been kept dry.

Also alcaline Dutch clay soils („polder"soils) reacted more slowly after having been kept dry.

As to the different indicators used, it was observed that cresol red usually gave results which were 0.1—0.3 lower in P_h thans those found with phenol red. For this reason phenol red must be preferred to cresol red. When studying the salt error, KOLTHOFF found better results with cresol red (58).

The determinations with the quinhydrone electrode gave only little differences between first reading (after two minutes) and latest reading.

When neglecting the little differences between these two readings (table VI), which may be allowed for the purpose of practical soil work, the efficiency of the quinhydrone method has proved to be higher and no other method could give so good results in such an easy manner.

As to the colorimetric methods it must be said that while the deviations of the dialysis-method were practically the same as those of the other colorimetric methods, the former elegant method must be preferred, which requires much less work and garantees a clear liquid in all cases.

That the possibility of obtaining a clear extract is of great importance, may be concluded from the experience of Mr. BRENNER, who could not work colorimetrically with Finnish loam soils, as neither filtring, nor sedimentation could give a sufficient clear liquid (29, p. 125). *)

CONCLUSIONS.

If we start from the supposition that the hydrogen electrode gives the true values, we may conclude that the quinhydrone method was of some use, especially in the acid range, whereas the colorimetric method failed more than the quinhydrone method, especially in the most alcaline parts.

The Comber-Hissink method could be used for a rough taxation of soil acidity. For this type of soil it may be proposed to use the hydrogen electrode, when a qualitative test indicates alcalinity, and to use another method when soils are acid.

For acid lime-soils one may prefer the quinhydrone method, as being munch easier in use, and requiring less time than colorimetric methods. When using the colorimetric method, dialysis may be recommended.

In the following chapter I will discuss whether there is agreement between my results and those of other investigators.

SOME OBSERVATIONS ABOUT THE EFFICIENCY OF DIFFERENT METHODS, AS RELATED BY LITERATURE.

KOLTHOFF showed the possibility of applying the quinhydrone method to soil-work in 1923 (**55**), and in the same year this investigator published some preleminary researches concerning the colorimetric determination of the P_h values of soils (**56**).

In 1924 BILLMANN published a paper on the use of the quinhydrone electrode for soils (**17**), drawing the conclusion (p. 233) that in soil-suspensions up to P_h 8,5 this method may be used. Deviations from 0.1—0.2 are allowed and this author did not find great differences between quinhydrone and hydrogen electrode.

---

*) Using the Komplex indicator and the Reaktiometer of KÜHN, I recently obtained good results with alkaline soils, as shown in table VIII.

The soil is shaken with boiled distilled water in a small tube, seven drops of indicator and some BaSO4 are added and the tube is closed.

After shaking the soil sinks to the bottom, and in the clear liquid the color can be compared with a color-scale. I used buffer mixtures for comparing.

BILLMANN asked CHRISTENSEN to make a prolonged investigation. This paper appeared in 1923 in the Danish language (**30**) and in 1924 the same investigations were published in „Internationale Mitteilungen für Bodenkunde" (**31**).

CHRISTENSEN and TOVBORG—JENSEN examined a great number of Danish soils, and came to conclusions, from which I give an extract.

For Danish soils the quinhydrone electrode was, as regards accuracy quite equal to the hydrogen electrode, but the quinhydrone electrode failed for lateritic soils from Africa.

The electrometric determination gives more reliable information than the colorimetric determination, *which in the case of neutral or alcaline reacting soils shows too low, — in certain cases very much too low — results.*

The bad results of the colorimetric determinations seem to be due to the very slight buffer content of clear soil extracts.

As the quinhydrone method permits of as quick a reaction test as the colorimetric method, it should be preferred in mass investigations to the latter method.

Important also is that CHRISTENSEN and TOVBORG—JENSEN found *only very seldom colorimetrically* a P_h value being higher than 7.6.

With 5000 determinations, 10 times P_h 7.6 was found, 3 times 7.8, and only once 8.0 (p. 17).

In the same manner as for my own values, I calculated the average deviations found by CHRISTENSEN and JENSEN, for each P_h value.

Table VIII reports the results of my calculations and shows that the quinhydrone method usually gave small deviations when soils were alcaline, whereas the colorimetric methods gave much lower values for alcaline soils.

When examining African lateritic coffee-soils, they found with the quinhydrone electrode values were much too high.

This proves again that the efficiency of a method is best jugded for *types* of *soil* only, and that generalising is very dangerous in this respect.

As a rule the deviations of the colorimetric methods were negative in the alcaline range, and positive in the acid range.

The differences between filtrate and centrifugate were not important. As to the Comber-Hissink method also CHRISTENSEN and JENSEN observed that liquid II is only seldom red, above P_h 7.5, and that

under P_h 6.6 liquid I — which is always red when the P_h is 5.5.— becomes red.

In 1923 GAINEY (**38**) published a comparison between the hydrogen-electrode values and the values obtained colorimetrically.

This author examined nearly 400 soils, but his conclusion was rather dangerous: „In general the electrometric and the colorimetric determinations of the hydrogen ion concentration agreed".

The average difference as 0.28, which is not so low that it may be neglected.

Moreover one must not consider the average deviation of a large number of determinations, for the soils which gave good conformity lower the value of the average deviation, — when some soils give large deviations. — One must look how the deviations are divided among the different types of soil.

The first classification is shown in table IX, which I calculated from the values of GAINEY.

It appears that below P_h 4.3 and above P_h 7.6 great and very great deviations occurred.

Table X shows another classification of the deviations, from which we may conclude, *that in nearly half the cases the deviation was more than 0.2.*

Table IX also shows that in the **alcaline range negative deviations are the rule,** while we must look for positive deviations in the acid range.

NIKLAS and KOCK (**61, 62,** p. 91) conclude that the colorimetric method may be used, but they give only 16 determinations.

The number of the determinations is too small, to allow of a conclusion. Moreover their soils were all acid, and the writers consider as well the quinhydrone method as a standard as the hydrogen method.

EVERETT CARLETON (**27**) examined 31 soils and found only small differences between the values obtained electrometrically with the hydrogen-electrode, and the values obtained colorimetrically.

But the soils of CARLETON too were nearly all acid (except two). **I also calculated deviation tables from the values of CARLETON** (table XI and XII).

From these investigations it may only be concluded that the colorimetric method has given good results between P_h 4.8 and P_h 7.0.

BARNETTE, HISSINK and VAN DER SPEK (**13, 14**) used 32 soils, and determined hydrogen ion concentrations electrometrically with the

hydrogen electrode, and colorimetrically in the centrifugated suspension.

These authors found rather small deviations, they cite GAINEY (**38**), CARLETON (**27**) and GÖRBING (**42**) and come to the following conclusions, which I translate from Dutch:

„From the results of our researches and from those of other investigators, we think we may conclude that the colorimetric determination of the P_h value of the soil, if one works with well centrifugated suspensions, as compared with the electrometric methods, gives sufficiently exact results". (**14** p. 147, see also **13** p. 35).

This conclusion seems to me rather risky, for the soils which are mentioned in BARNETTE, HISSINK and VAN DER SPEK's paper *were all acid,* so that their own results only allow of a conclusion concerning a group of soils.

These authors too have neglected the alcaline range. The papers by GAINEY and CARLETON, they cite, have already been discussed.

As to the communication of GÖRBING that in the Hamburg Laboratory the exact measurements (die genauen Messungen) of the hydrogen-ion concentration are performed by means of the colorimetric methods, this may not, as BARNETTE, HISSINK and VAN DER SPEK do, be considered as sustaining the thesis that the results obtained by the colorimetric method as compared with those of the electrometric method, are sufficiently exact.

Apparently GÖRBING supposes that colorimetric measurements are exact, also for soils, but he does not give any basis for this supposition.

In 1923 OLSEN published a study on P_h and vegetation (**63**) using the colorimetric method (filtrate). Page 22 shows a comparison between colorimetric and electrometric (hydrogen) methods, practically there is no difference. Only two soils out of 18 are somewhat alcaline.

In OLSEN's paper one seldom meets with P_h values above 7.7. The same can be said of the publications by other plantgeographers. The very important study by BIJHOUWER (**21**) usually gives 7.6 as highest P^h value, but many soils contain much $CaCO_3$ and would have shown a P_h value of ± 8.5, when examined electrometrically with the hydrogen electrode.

Also CHODAT (**28**) and SAGER (**70**) practically give P_h 7.6 as the lowest acidity.

As long as the hydrogen electrode is considered as a standard, the P_h values of alcaline soils found colorimetrically must be considered as too low. Only when it will be proved that the values obtained by

the hydrogen electrode are erroneous, and can be corrected, it will be allowed to use the colorimetric values, supposed also that the International Society of Soil Science accepts this correction as a standard.

In 1927 OLSEN published, together with LINDERSTRÖM—LANG, a paper on the merits of the different methods for determining the hydrogen ion concentration of soils (**64**).

They examined 93 Danish soils of different type, and a number of these soils were alcaline.

Many times the quinhydrone method gave results which were too high, the colorimetric method gave too high values as well as too low values, the deviations ranging from + 0.3 to — 0.4.

For P_h values under 5.0 and above 8.0 their results are usually 0.3 too low and between P_h 5.5 and 7.7 they are on an average 0.15 too high.

According to OLSEN and LANG, there must be two causes for these phenomena.

Filtrates with a P_h value 8.0 lose carbonic acid to the air, and the colloidal humic substances influence the color of the indicator.

The indicator-error does not depend on the indicator used, nor on the P_h value of the soil; the error is always — 0.35.

The authors have calculated a correction curve for suspensions 1 : 1 of undried soils which have been filtered after 24 hours.

When the correctiongraph given is used, the accuracy of ± 0.15 P_h is said to be attained, and OLSEN and LANG prefer the colorimetric method, moreover they write that the colorimetric method may be used, for all soils, with the exeption perhabs of the alkali soils.

OLSEN and LANG do not accept the values obtained by the hydrogen electrode as a standard. They have got a new standard by correcting the values of the hydrogen electrode. According to these investigators the hydrogen has driven out carbonic acid from the soil-suspensions, causing changes in the reaction.

They have determined the P_h of a suspension in three ways:

1°. by means of the quinhydrone electrode;

2°. by means of the quinhydrone electrode after leading carbonic-acid-free air through the suspension during 24 hours;

3°. with the hydrogen electrode after leading through air, as under 2°.

Subtracting the difference between the two quinhydrone measurements from the result obtained by the hydrogen-electrode, they get the standard value.

From their determinations OLSEN and LANG have constructed the correcting-graph, which is said to be valid for any soil.

This cannot be accepted. As there are different factors causing the hydrogen-ion concentration of soils, the effect upon the soil reaction of driving away the carbonic acid must vary too.

Moreover the investigators have not proved that the values which they get when correcting may really be called: *standard values.*

Nor can the conclusion that with the aid of the correcting-graph, the colorimetric method has become valid for all soils, be right.

These authors have generalised too much, for it is not allowed to draw conclusions concerning the soils of our earth globe from 93 Danish soils.

Many times I filtered the suspension which had been used for the hydrogenelectrode, and determined the P_h value of the filtrate by means of the colorimetric method. However I did not find the differences mentioned by OLSEN. The results were:

91*b*	7.3	335*c*	7.2	728*b*	6.8
102	5.6	535*b*	5.4	729*a*	7.5
105*a*	4.6	536	6.9	729*b*	7.3
105*b*	4.6	552	6.3	730	5.9
320*b*	7.2	567	7.5	744*b*	7.2
321*a*	6.9	568	6.1	745*b*	7.5
321*b*	7.5	569	7.1	746*b*	7.4
335*b*	7.3	728*a*	7.2		

Contrary to OLSEN and LANG, ARND and SIEMERS (3) came to the conclusion that CO_2 must always be driven out in order to get the right P_h values.

BRIOUX and PIEN (24) examined 37 French soils by means of the hydrogen-electrode and the quinhydrone one. Sometimes they got large deviations when using suspensions, but better results when using centrifugates.

It may be that the error caused by centrifuging is compensated by other errors.

SNYDER (74) determined P_h of 56 soils. He used the hydrogen

electrode, the quinhydrone electrode and sometimes also GILLESPIE's colorimetric method.

The values obtained by the quinhydrone method usually tallied well with the values of the hydrogen electrode, when soils were acid, but in alcaline soils larger deviations occurred.

As SNYDER reports in his summary that, when using the hydrogen electrode equilibrium was in general established in 5—10 minutes, it may be that this author has not waited long enough and therefore found too low values with the hydrogen electrode, which causes smaller deviations.

Only alcaline soils were examined colorimetrically by SNYDER. The deviations of the colorimetric method were mostly negative, and as a rule rather great. Many times SNYDER colorimetrically found values above 7.6.

Working with 26 Kentucky soils HEALY (**44**) finds good accordance between electrometric and colorimetric methods. His deviations range from 0.03—0.35, the average deviation being 0.17. Only two soils were alcaline, and no more than P_h 7.3.

According to CHRISTENSEN centrifuging is better than filtering, when one works colorimetrically, but the colorimetric method takes too much time for mass work, and this author recommends the quinhydrone method, which is said to be as accurate as the hydrogen method, up to a P_h value 8.4 (**32**, p. 512).

Also BILLMANN recommends the quinhydrone method, which is a very *fast* one.

When using the colorimetric method on alcaline soils, I found many erroneous results in the Geological Laboratory at Wageningen.

In general the quinhydrone electrode gave results tallying well with the results obtained by the hydrogen electrode, also in the alcaline range.

Only as an exception results obtained by quinhydrone showed great deviations. For instance a series of 15 samples obtained when a well was bored in the Wageningsche Berg (Holland) and consisting of loamy sand, have given P_h values by the hydrogen electrode, ranging from 8.1—8.8, the results obtained by the quinhydrone electrode being on an average 0.7 P_h lower.

A loamy sand from the Wolkenburg (Siebengebirge, Germany) gave P_h 7.8 with the hydrogen electrode, and with the quinhydrone electrode P_h 6.7, but a loamy sand from Römlinghoven (Siebengebirge, Germany)

gave P_h 5.7 by the hydrogen electrode and P_h 7.1 by the quinhydrone method.

A grey weathering-soil of sandstone from Spitsbergen gave P_h 8.3^5 by the hydrogen electrode, and 7.2 by the quinhydrone electrode.

A red soil from cape Boheman (Spitsbergen) gave P_h 8.7 by the hydrogen electrode and by the quinhydrone method 7.3.

The possibility of deviations always exists, but this bad chance is not equal to the large advantages of the quinhydrone method.

NOVAK (**82**, p. 54) has found lower values colorimetrically than when using the quinhydrone method, especially when working with alcaline soils.

KAPPEN and BELING (**53**, p. 25) consider the quinhydrone method a „für bodenkundliche Zwecke durchaus brauchbare und wegen ihrer schnellen Einstellung vor allem für Massenuntersuchungen geeignete Methode".

HUDIG has introduced the quinhydrone method in the Dutch Experiment Stations. The energetical manner in which HUDIG has applied the quinhydrone electrode for determining the lime status of sandy soils gave rise the creation of a special laboratory, and nowadays in farming on Dutch sandy soils it has become a rule to consult „HUDIG's laboratory".

HETTERSCHY and HUDIG (**45**) have found good accordance between the results obtained by hydrogen method and quinhydrone one, but do not communicate their values.

In general we may say that different investigators are satisfied with the results obtained by the quinhydrone method.

ARRHENIUS wrongly states that colorimetric methods and electrometric methods are of equal value (**7**). ARRHENIUS proposes the use of the colorimetric method, saying: „der Unterschied zwischen den auf kolorimetrischem und elektrometrischem Wege gefundenen Werten ist ja auch sehr gering", and „eine gut ausgeführte kolorimetrische Messung mit einem zuverlässigen Indikator hat den gleichen Wert wie eine gewissenhaft ausgeführte elektrometrische Bestimmung". (**6**, p. 134, **8**, p. 84).

That the differences between colorimetric and electrometric values are not always very small, is proved by the determinations of N°. 746*b*, 746*c*, 747, 745 and 744, which correspond to the numbers 697, 698, 699, 700 and 701 of a paper of ARRHENIUS (**9**).

The statement of ARRHENIUS is very dangerous, as also appears from the papers by other investigators.

PIERRE (**66**, p. 292) has made the experience that differences between the colorimetric method and the electrometric one are not due to errors of the colorimetric method, but to so-called poisoned hydrogen electrode.

When repeating the electrometric determination, the result was often found to be erroneous.

PIERRE made a comparison between the electrometric method and the colorimetric one applied to 20 soils, and found no differences higher than 0.1 in P_h. Of these soils 9 were alcaline, but always less than P_h 7.8. This investigator states that: „The colorimetric method therefore can be used as a check on the electrometric method, if the procedure described is followed." This statement however must be wrong.

HISSINK and VAN DER SPEK (**48**, p. 32) have determined P_h in a number of acid soils, using centrifugates and suspensions with quinhydrone, and determining colorimetrically when using centrifugates.

They found large deviations between quinhydrone values and those obtained colorimetrically, whereas the values of the suspension were in nearest conformity with the values found colorimetrically.

It is a pity that they have not also used the hydrogen electrode too, which still must be considered as a standard.

Recently Mc. GEORGE has shown that the quinhydrone electrode can give too high results in manganiferous soils (**39**).

SUMMARY.

It may be stated that for the present the colorimetric method is not accurate enough for alcaline soils, the quinhydrone methods giving better results, which are not always the same however as those obtained by the hydrogen electrode.

It is not yet possible to obtain standard values by correcting the values obtained by the hydrogen-electrode.

The quinhydrone method has proved to be cheap, easy in use, for many soils also accurate, asking only a short time, and it seems to be the method for *masswork*.

However it is necessary to codify the use of this method, for there are different factors affecting the results. The discussions on this subject show how difficult it is, to come to an agreement.

QUESTIONS CONCERNING THE CODIFICATION OF THE USE OF THE QUINHYDRONE METHOD.

The first question is: which soil water ratio must be considered the best?

SHARP and HOAGLAND found hardly any change of the reaction when diluting suspensions from 1 : 2 as far as 1 : 500 (**72**).

. KOLTHOFF and the author observed in 1923 only a very small influence of diluting. A soil-water ration 1 : 1½ gave the same result as a ration 1 : 3. (**56**, p. 676).

In the same year SALTER and MORGAN (**71**) came to a soil-water ratio 1 : 5 as a norm.

CHRISTENSEN found hardly any influence, when diluting from 1 : 1 up to 1 : 20 (**29**, p. 129).

OLSEN found no difference between ratios 1 : 1 and 1 : 2 (**63**, p. 20).

ATKINS proposed a soil-water ratio 1 : 2 for faintly buffering soils, and 1 : 5 for other soils (**10**).

In 1924 the German Experiment Stations adopted diluting 1 : 2½. To this recommendation the prescription was added that only filtrates should be used when working with electrometrical methods (**52**, p. 248). The use of filtered extract was based on an observation by KAPPEN, who found that a filtrate showing a P_h value 6.1, gave a P_h value 4.8, after adding some soil, the P_h of the suspension being 4.6 (**51**, p. 78).

In my opinion, however, this experience rather points to the use of suspensions.

As to colorimetric determinations, the same ratio was recommended but the use of 1 m.KCl instead of water was adopted.

This is a consequence of the German preference for determining „Austausch Azidität".

It must be stated that when using KCl, we do not determine the P_h value of the soil, as a physical constant.

The result of the determination may be of value, but when one wishes to determine the P_h with KCl, one should use the P_h value in water as well, and consider the differences between these figures.

TRUOG and PIERRE came to the conclusion that diluting the suspension only influences the P_h value, when the soil contains soluble salts and acids (**80**).

PIERRE observed hardly any influence between 1 : 1 and 1 : 100 (**66**).

HISSINK and VAN DER SPEK observed in few cases that on increasing the concentration the P_h value rose, at first, and then it fell.

They think that perhaps as concentrated a suspension as possible may be the best (**48**, p. 34).

In another paper they propose always to take the suspension as thick as possible (**49**, p. 245).

BILLMANN thinks systematic researches necessary to find the best soil-water ratio (**19**, p. 195).

BILLMANN and TOVBORG—JENSEN have given some directions for the right use of the quinhydrone method.

According tot these investigators it is an advantage of the quinhydrone method that it allows of using a very concentrated suspension, but the best soil-water ratio varies with the soil used.

In the Geological Laboratory at Wageningen, Holland, where the most divergent types of soil, from all parts of the earth have been examined, I observed many times that some heavy soils must be diluted very much; humic soils also ask much water, as they absorb a great volume of this liquid.

BILLMANN and JENSEN have given the standard-ratio 1 : 1 (**20**, p. 258).

Also CLARK and COLLINS used this soil-water ratio (**33**).

BAVER used a ratio 1 : 1 for the quinhydrone electrode and for the hydrogen electrode 1 : 5 (**16**).

KAPPEN and BELING gave the ratio 1 : 2½ for the quinhydrone eléctrode (**53**, p. 3), OLSEN and L. LANG a volume ratio 1 : 1 (**64**, p. 6).

TERLIKOWSKI wishes a suspension as concentrated as possible (**79**).

At first LEMMERMAN wanted „das Verhältniss so eng wie möglich gewählt", later on 1 : 2½.

GEHRING was of opinion that the water holding capacity was of influence and that the water should be 1 m.m. above the soil-water mixture (**82**, p. 62).

CHRISTENSEN denies the influence of the waterholding capacity, and states little influence of the soil-water ratio for Danish soils. He gives a ratio 1 : 2 as a norm (**82**, p. 62).

KAPPEN wishes a ratio 1 : 2 (**82**, p. 63).

The second Commission of the International Society for Soil Science has preferred a soil-water ratio 1 : 2½ (**82**, p. 64), but later on the report of BILLMANN and JENSEN was accepted, and a ratio of 1 : 1 adopted (**36**, p. 226).

Recently McGEORGE has given a table showing the influence of diluting from 1 : 1 up to 1 : 5, on 22 Hawaiian soils as measured by

hydrogen and quinhydrone electrodes. In most cases the P_h becomes somewhat higher on diluting the suspensions (**39**, p. 85).

The soil water ratio 1 : 2½ may do very well in most cases, but strongly *humic* and *very heavy* soils require more water.

ARND and HOFFMANN come to the conclusion that 10 grams of peat soil (on a dry basis) must be treated with 100 c.c. water (**4**, p. 231).

I suppose that the ratio 1 : 1 will prove to be too dry, when more types of soil are used than BILLMANN and JENSEN could have at their disposal, especially when suspensions are stirred during the readings and soils contain much clay and fine silt, a ration of at least 1 : 2½ is necessary.

It may be proposed to make comparative investigations for every country in order to find the most preferable soil-water ratio for every existing type of soil.

Another question is: How long must the soil be in contact with the water?

From investigations by KOLTHOFF and the author that have been mentioned above, it appears that the soils of 1923 were usually in equilibrium with water after half an hour already, and at any rate after two hours (**56**, p. 676).

I usually wait 24 hours in order to be sure that equilibrium is attained. Especially for soils which have been kept dry during a long time, this seems necessary.

HISSINK and VAN DER SPEK intended to wait 20 hours (**48**, p. 33).

CHRISTENSEN proposed to prepare the suspensions in the afternoon and to measure them the next morning (**82**, p. 63).

BILLMANN and TOVBORG—JENSEN observed only small differences between the reactions after a quarter and those after 24 hours, but they say that in a concentrated suspension the equilibrium is attained more quickly than in more diluted suspensions.

Using the quinhydrone electrode the platinum electrode can be dipped in the thick „paste" as far as the bottom of the vesel, in which case the equilibrium is attained after few secunds (**20**, p. 259).

According to BRIOUX and PIEN 24 hours are necessary, when applying electrometric methods (**25**, p. 5,6).

OLSEN and L. LANG came to the same conclusion (**64**, p. 6).

ARND and HOFFMAN found that peat soils must be shaken during 15 minutes and that the P_h value can be determined after half an

hour. If shaking produces difficulties, the soil water mixture must stand 24 hours (**4**).

A third question is whether it is necessary to use ordinary distilled water, or carbonic-acid-free distilled water, for preparing suspensions.

Of course carbonic acid has some influence. If carbonic acid is driven out, as it may be observed, when the hydrogen electrode is used, dissection of bicarbonates can change the reaction, which has been observed by HUDIG and STURM (**50**), BILLMANN (**19**, p. 196), OLSEN and LINDERSTRÖM—LANG (**64**, p. 13).

Also BAVER observed wrong results of the hydrogen electrode when working on alcaline soils (**16**, p. 173).

SHARP and HOAGLAND (**73**) did not find much influence of carbonic acid, when blowing hydrogen containing 10 % CO_2 into a suspension.

PIERRE (**66**) observed some influence, when leading CO_2 through the soil liquid, but hardly any influence of CO_2 when preparing the suspensions.

TRUOG and PIERRE (**80**) state that the influence of carbonic acid is very slight.

KAPPEN and BELING (**53**, p. 3) advise the use of boiled distilled water, but report only little influence of carbonic acid.

According to ARND and SIEMERS (**3**) the carbonic acid must be driven out, in using the quinhydrone electrode above P_h 5 carbonic acid must be driven off, for which carbonic-acid-free air can be used up to P_h 8.5.

This elimination can be effected by means of carbonic-acid-free air up to a P_h value of 8.5.

According to TERLIKOWSKY (**79**, p. 135) the soils buffering most are least affected by carbonic acid.

CHRISTENSEN and TOVBORG—JENSEN (**31**, 18—21) have proposed to free boiled distilled water from CO_2 by leading carbonic acid free air through it. In this way water is obtained, which contains 1 mgr. CO_2 a L.

BILLMANN and TOVBORG—JENSEN also (**20**, p. 263) proposed the use of boiled water or water that has been treated with carbonic-acid-free air.

According to these authors, water containing carbonic acid brings the suspension nearer to the natural state, this natural state being indefinable however.

OLSEN and L. LANG used carbonic acid free distilled water. (**64**).

According tot BJERRUM (**22**) in soils, in which $CaCO_3$ causes alcaline reaction, the influence of carbonic acid on P_h is determined by the equation:

$$P_h = 5.05 - \frac{1}{2} \log (Ca) - \frac{1}{2} \log PCO_2.$$

The Second Commission of the International Pedologic Society proposed to work with distilled water, which must be in equilibrium with the pressure of the carbonic acid in the atmospherical air.

This proposal of the Second Commission seems very logical. When the suspension is exposed to the air during some time, the carbonic acid will also act upon the suspension.

Trying to keep the suspension absolutely free from the air will render the determination needlessly complicate. After all the suspensions do buffer, and usually the influence of carbonic acid is very slight.

Moreover from the interspaces of the soil, air containing carbonic acid is sure to come into the suspension, from the spaces in the soil.

Another question is: *May air-dried soil be used for determining P_h values?*

Practice frequently necessitates the use of air-dried soil samples, so that this question is very important.

ARRHENIUS (**5**, p. 223) observed that the drying of soil samples was of little influence upon the P_h values.

HEALY and KARRAKER (**43**) found that drying rendered soils somewhat more acid, ROST and FIEGER (**68, 69**) came to the same conclusion BURGESS (**26**) examined 14 soils, their P_h ranging between 4.36 and 7.78 and observed some effect of drying upon the acidity of soils; especially when working on alcaline soils.

SAGER (**70**) found but a small deviation in P_h (0.1).

In 1924 the Commission of the German Experiment Stations recommanded drying the samples and to execute determinations as soon as possible after drying. (**52**).

AARNIO and SALMINEN (**1**) observed a great difference, which they attributed to air-drying, but as they compare aproximate colorimetric determinations with electrometric laboratory determinations this conclusion cannot be accepted.

Erich KNICKMAN (**54**) reports that the titration-acidity is changed by drying the soil.

BAVER (**15**) mentions some influence of drying, some times 0.3 —0.6 in P_h.

LEMMERMANN (**83**, p. 146) proposed to examine air-dried soil, as soon as possible after taking the samples.

TERLIKOWSKY has reported (**79**, pp. 153—156) irregular changes owing to drying, and proposed not to dry soil samples and not to keep them dry.

Of course this proposal cannot be accepted, as it is impossible to keep moist soil samples for a long time without any change.

BILLMANN and TOVBORG-JENSEN did not observe that drying (**20**, p. 261) had any effect.

ARND and HOFFMANN (**4**, p. 231) did not observe great changes by drying peat soils. In the Geological Laboratory of the Agricultural University at Wageningen influence of air-drying was sometimes observed, alcaline soils were rendered less alcaline, and the general tendency was to become more acid.

The deviations however were very small, and were not caused by *drying, but by keeping dry during a long period.*

The best method for all soil work is to make determinations on the spot, but this is not always possible. Whenever possible I place my apparatus in the neighbourhoud of the field the soil of which must be examined, and take the samples in moist state to the „laboratory" for immediate determination of the P_h value.

Approximate determinations are made in the field, the further ones being made in the laboratory.

We do not use TRENEL's field apparatus (**77, 78**), as it is too expensive and moreover in using it, KCl reacts with the soil suspension, which may give a lower P_h value (**69**, p. 30, **42**, p. 35).

A great advantage of using dry soil is that the soil-water ratio can be regulated. Also BILLMANN and TOVBORG-JENSEN draw attention to this point. (**20**, p. 261).

AARNIO reports important changes of the reaction caused by storing some Finish soil samples (Ton) in a thermostate at 25° C. (**2**).

BRENNER, however, who had examined 2000 Finish soil samples at the time stated that he only seldom observed changes in reaction of soil samples, caused by storing them dry. The soils which changed their reaction were as a rule „Tonböden". (**23**, p. 4).

After all the tendency of soil to become more acid upon air-drying gives deviations remaining in general within the limits of practical accuracy.

In 1927 Dr. COMBER recommended the use of air-dried soils, as soon as possible after taking the sample (**36**).

The fourth question concerning the use of the quinhydrone electrode is, whether direct readings of the potentiometer give exact results or whether it is advisable to wait till constancy is obtained.

CHRISTENSEN and TOVBORG-JENSEN made readings some minutes after adding quinhydrone (**31**, p. 5).

According to HISSINK and VAN DER SPEK (**48**, p. 37) the reaction becomes a little more acid, immediately after adding quinhydrone, after ten minutes a constant potential being obtained in a soil suspension. For the time being these investigators could only draw the conclusion that there must be an equilibrum which was not immediately attained.

BILLMANN (**17**, p. 197; **18**, p. 178) makes the funny remark, that the best reading can be obtained immediately after adding quinhydrone, because doing so bad influences have no time enough to react.

OLSEN and LINDENSTRÖM-LANG (**64**, p. 8) report inconstant potentials as well for acid as for alcaline soils. They always took the first reading.

BAVER (**16**, p. 173) mentions a difference of 0.3 in P_h with an alcaline soil between the first reading and that when constancy was attained. After two minutes the potential of this soil appeared to be constant. Soils having a P_h value below 8.0 were speedily constant.

BILLMANN and TOVBORG-JENSEN (**20**, p. 248) observed only small deviations (± 0.1) between readings after ¼ hour, and those after 4 hours, and conclude that the exact potential is attained immediately. The changes in their potentials were not in one direction. The soils used were loams, clays and soils containing much humus.

Also OOSTING and STAF (**65**) found only small differences when studying acid Dutch forest-soils.

As to the examination of the Indian limestone-soils, I usually observed good conformity between the first reading and that when the potential was constant.

Also small deviations occurred, and only seldom larger deviations, up to 0.4 in P_h were observed. As well positive as negative deviations, were found. As a rule the readings were constant after 10 minutes. Table VI shows differences obtained on some of the limestone soils.

Similar results were obtained on other soils. Sometimes readings rose to a maximum, but I also met with minima. I always stirred the suspensions, and generally after 10 or 15 minutes constancy was attained.

Some soils showed very curious fenomena.

The interjacent layer between violet and yellow weathered tuff from an acid volcanic rock, a sample taken near the new road from Siantar to the Lake Toba, near Aik Na Oelei (Sumatra, Dutch-Indian Archipelago) has given three times the same value P_h 5.7, when using the hydrogen electrode in suspensions.

Using the quinhydrone electrode suspension I gave: first reading 7.2 the reading became constant as 7.3; suspension II gave; 1st reading 6.5, became constant at 5.6^5, then drifted during some time between 5.7 and 5.1 and showed a P_h value 5.1 after 4 hours; suspension III gave: 1st reading 7.25, was constant at 7.35; suspension IV on first 7.35, when constant 7.5; suspension V first reading 6.4, when constant 7.6; suspension VI 7.3, during some time 6.4 and became constant at 7.0.

Filtrate and diffusate gave P_h 5.5 with methyl red.

Another volcanic soil (yellow weathering soil from liparitic pumice stone tuff, Pabatoe near Tebing Tinggi, Sumatra) gave P_h 7.0 on first reading and was constant after 15 minutes at P_h 5.35.

Both colorimetric determination and electrometric with hydrogen electrode gave a P_h value 5.3.

These cases show that the first reading not always gives the exact value. In the second case surely equilibrium was not immediately attained.

Samples of tropical peat-soils, collected by Prof. J. VAN BAREN in Java and Sumatra, possessed a P_h from 2.3 to 4.8, and always the first reading was the same as the following readings.

An alcaline soil (P_h hydrogen electrode 8.8) from a kaolin quarry (Römlinghoven, Siebengebirge, Germany) gave a drifting potential, whereas another sample taken not far from the place of the first sample (P_h hydrogen electrode 8.5) did not show this phenomenon.

The B_2 layer from a Fennish podsol-profile, which was kindly sent to our laboratory by Prof. Dr. B. AARNIO, gave 5.8 on first reading, became constant after 7 minutes at 4.8. The hydrogen electrode indicated a P_h value 5.05.

A calcareous loam, kindly sent to our laboratory by Dr. H. RASZKOWSKY, from the neighbourhood of Gaza (Palestina) gave readings which varied between 7.4 and 9.2.

These examples of drifting potentials and rather great differences might be increased by a great number of similar cases.

However they are exceptions, which need not go together with

great differences between the quinhydrone electrode and the hydrogen one.

With regard to the great saving of time for masswork, I think it advisable to make only one reading some minutes after adding quinhydrone.

Also stirring the suspensions can be omitted, for considering the first reading is taken as the correct one, stirring is of little influence.

For mass work in our laboratory I put one part of soil together with two parts of distilled water in a Pyrex tube and from time to time this is shaken. After 24 hours quinhydrone is added to the tubes and readings are made. While readings are made, meantime other suspensions reach equilibrium with quinhydrone.

From the literature which has been discussed and from the experience in our laboratory, I think I may conclude that if the cost of an electrometric apparatus is no objection the quinhydrone electrode must be preferred to the colorimetric method.

A determination with the quinhydrone method takes less time, and danger of bad results through color-blindness or bad light need not to be feared.

Moreover the apparatus can always easily be controlled, which is not the case with the much used colorimetric method of GILLESPIE (**41**).

If an indicator has not been prepared well, bad results with this method may be obtained, without being observed.

A skilled staff is less necessary for the quinhydrone method than for the colorimetric one.

Filtering suspensions is always a work that asks much care, the filtering paper must be neutral, centrifuging requires a centrifuge; dialysis is cheap and simple, but simplest is a simple suspension which may be used for the quinhydrone method.

Also BRENNER thinks centrifuging a way more round about than working electrometrically (**2**, p. 6).

Consequently there are many reasons for using the quinhydrone method. Of course for scientific detail-work and for controlling the results obtained by the quinhydrone electrode, the hydrogen electrode must be used.

At the end of this discussion concerning the quinhydrone method, I draw attention to the fact that KOLTHOFF and BOSCH have proved that ill-prepared quinhydrone may give too low P_h values (**60**).

When working with soil suspensions KOLTHOFF and BOSCH's sug-

gestion to redress this error by continuously decantating after adding quinhydrone cannot be practically acted upon.

Therefore working with a well prepared quinhydrone must be advised.

ACKNOWLEDGEMENT.

I am much indebted to Prof. J. VAN BAREN, who gave me time, soils and material for this study, and to Prof. Dr. I. M. KOLTHOFF who allowed me to study the determination of hydrogen-ions in his former laboratory at Utrecht.

Wageningen, April '29.

SAMENVATTING.

Sinds een zestal jaren werden in het Geologisch Laboratorium der Landbouwhoogeschool een aantal gronden op zuurgraad onderzocht, teneinde na te gaan, welk verband er bestond tusschen dezen factor, den geologischen ouderdom, het klimaat en de petrografische samenstelling van den moedergrond. Een dusdanig onderzoek, destijds nog nieuw, vond en vindt in Wageningen een rijk materiaal, daar het Geologisch Museum bodemprofielen bevat van Nederland, België, Frankrijk, Spanje, Italië, Istrië, Dalmatië, Zwitserland, Hongarije, Duitschland, Zweden, Noorwegen, Spitsbergen, Engeland, Spaansch-Marokko, Algerië, Tunis, Palestina, Amerika, Ned. Oost-Indië en West-Indië. Deze mededeeling, die later gevolgd zal worden door meerdere, bericht alleen over gebruikte methoden.

De veelsoortigheid van dit materiaal bracht n.l. verschillende technische moeilijkheden naar voren. Omtrent de Indische kalkgronden werden door Prof. VAN BAREN zeer vele onderzoekingen gedaan en gegevens medegedeeld, welke te vinden zijn in diens studie: Microscopical, physical and chemical studies of limestones and limestone-soils from the East Indian Archipelago. (Mededeelingen van de Landbouwhoogeschool, Deel XXXII, N°. 7, Wageningen, 1928). Het is daarom in verband met de studie van de methodiek der zuurgraadsbepaling van belang thans uitvoerig bijzonderheden mede te deelen, over de resultaten van verschillende methoden, toegepast op gronden waarvan vele eigenschappen bekend zijn.

Alle beschreven bepalingen werden door mijzelf verricht.

De volgende methoden werden toegepast:

1. Electrometrische methoden:
   a. waterstofelectrode;
   b. chinhydronelectrode;
   c. antimoonelectrode.

2. Colorimetrische methoden:
   a. met Amerikaansche indicatoren en buffermengsels;
   b. onderzoek van centrifugaat;
   c. onderzoek van exarisaat, verkregen door eenvoudige dialyse door perkamentpapier;

d. onderzoek van filtraat, verkregen met behulp van Zweedsch filtreerpapier;

e. de methode Comber-Hissink.

De electrometrische methoden werden toegepast op suspensies. Wat betreft de chinhydronelectrode, deze heb ik in 1923 in gebruik genomen voor het onderzoek dezer gronden. De antimoonelectrode werd vóór mij slechts door SNIJDER toegepast op enkele Amerikaansche gronden. Binnenkort zal omtrent deze electrode een uitvoerige mededeeling gedaan worden.

De resultaten der bepalingen zijn te vinden in tabel I tot en met VI. Voor iedere P_h werd de gemiddelde afwijking bepaald. Door deze berekening kan men nagaan of een bepaalde methode voor een bepaald P_h traject wel, en voor een ander traject niet bruikbaar is.

Het bleek, dat de colorimetrische methode voor alcalische gronden zeer verkeerde waarden opleveren kan.

De door de chinhydronelectrode aangegeven waarden waren in het alcalische gebied niet geheel juist, maar practisch bruikbaar.

De resultaten met de antimoonelectrode zijn dusdanig, dat de mogelijkheid niet ontkend kan worden, dat deze electrode na nauwkeurige bestudeering der eigenschappen een belangrijke aanwinst kan worden voor de P_h bepaling in gronden. De methode Comber-Hissink bleek voor een schatting van den zuurgraad zeer wel bruikbaar.

Bij het toepassen dezer methode is het echter raadzaam minstens 2 etmalen te wachten alvorens af te lezen.

De resultaten van verschillende onderzoekers heb ik omgerekend en de berekening leerde, dat in bepaalde gevallen bij het vellen van een gunstig oordeel over de colorimetrische methode, òf dit oordeel niet gewettigd was, omdat de gronden nagenoeg alle zuur waren, òf omdat verzuimd was bij de beschouwing de resultaten te classificeeren naar den P_h. Terwijl de colorimetrische methode voor zure gronden zeer goede resultaten kan geven, geeft zij in den regel voor alcalische gronden veel te lage waarden. Vooral met het oog op de colorimetrische P_h bepalingen der plantengeografen is deze opmerking van belang.

Over het geheel genomen zijn de resultaten met de chinhydronelectrode bereikt, zeer bevredigend.

Een uitvoerige beschouwing is gewijd aan de codificatie van het gebruik der chinhydronelectrode. Hierbij dient men niet te veel te generaliseeren, en rekening te houden met het grondtype.

Over het algemeen verdient het aanbeveling, te werken met luchtdrogen grond, die zoo spoedig mogelijk na de monsterneming gesuspen-

deerd wordt met twee gewichtsdeelen gedistilleerd water, hetwelk niet uitgekookt behoeft te zijn. Veengronden en zeer zware gronden eischen meer water.

De aflezing kan geschieden enkele minuten na het toevoegen van chinhydron. Voor nauwkeurig onderzoek is het gewenscht te roeren, en herhaaldelijk af te lezen, totdat een constante aflezing bereikt is.

Voor wetenschappelijk detailwerk blijft de waterstofelectrode als standaard echter steeds noodzakelijk.

TABLE I.

Determinations of P_h values.

	Electrometric			Colorimetric			Comber-Hissink			
							Red reagent		Colorless reagent	
	Hydrogen electrode	Quinhydrone electrode	Antimony electrode	Filtrate	Centrifugate	Diffusate	24 hours	48 hours	24 hours	48 hours
91*b*	8.5	7.8	7.5	7.3	6.9	7.4	pink	pink	> 6.5	> 6.5
101*b*	7.6	7.7	7.1	7.0	6.9	6.8	red	light red	> 6.5	> 6.5
102	6.0	6.1	5.7	5.7	5.9	5.5	red	red	> 6.5	6.5-6
105*a*	4.6	4.8		4.6	4.6	4.6	red	red	5.5-5	5.5-5
105*b*	4.7	4.5		4.6	4.5	4.6	red	red	5	5
108*b*	8.2	8.0	7.4	7.1	7.1	7.1	light red	light red	> 6.5	> 6.5
145*b*	7.4	7.0	6.6	6.8	6.8	6.8	red	red	6.5-6	6.5-6
958	7.8	7.3		6.4	6.5	6.4	red	red	> 6.5	> 6.5
244*b*	8.3	8.0	7.2	7.1	7.0	7.0	colorless	green	> 6.5	> 6.5
245	8.3	8.0		7.1	7.1	6.9	colorless	colorless	> 6.5	> 6.5
246	8.5	8.0	6.6	6.5	6.7	6.5	colorless	colorless	> 6.5	> 6.5
320*a*	8.2	7.8		7.6	7.3	7.3	red	pink	> 6.5	> 6.5
320*b*	8.6	7.8	7.5	7.2	7.2	7.3	pink	pink	> 6.5	> 6.5
321*a*	8.5	8.1		7.4	7.4	7.5	very light red	colorless	> 6.5	> 6.5
321*b*	8.3	7.4		6.9	8.1	6.9	pink	pink	> 6.5	> 6.5
322*b*	8.3	7.3	7.4	7.2	7.1	7.2	very light pink	colorless	> 6.5	> 6.5
323	8.5	7.5	7.45	7.3	6.8	7.3	red	red	> 6 5	> 6.5
324	8.5	8.0	7.4	7.3	7.5	7.4	colorless	colorless	> 6.5	> 6.5
335*b*	8.1	8.3		7.3	7.4	7.4	very light red	colorless	> 6.5	> 6.5
335*c*	8.2	8.1	7.5	7.3	7.4	7.4	light red	pink	> 6.5	> 6.5
535*a*	8.0	7.3	6.0	7.1	7.3	7.3	light red	pink	> 6.5	> 6.5
535*b*	5.8	5.8	5.4	5.4	5.8	5.5	red	red	6 5-6	6.5-6
535*c*	6.5	6.7	6.3	6.7	6.8	6.3	red	red	> 6.5	> 6.5
538	7.3	6.8	6.0	6.6	6.7	6.6	red	red	6.5-6	6.5-6
539	8.1	8.1	7.7	7.1	7.1	7.1	pink	colorless	> 6.5	> 6.5
546*a*	8.6	8.7	8.1	7.6	7.6	7.6	colorless	colorless	> 6.5	> 6.5
546*b*	6.6	6.8	6.4	6.4	6.3	6.6	red	red	6.5-6	6.5-6
548*b*	8.3	8.1	7.8	7.3	7.1	7.4	light red	pink	> 6.5	> 6.5
549	8.5	7.9	7.9	7.9	7.1	7.3	colorless	colorless	> 6.5	> 6.5
550	8.0	8.2		7.0	7.5	7.0	red	red	> 6.5	> 6.5
551*b*	6.6	6.7	6.45	6.1	6.1	6.1	light red	very light red	6.5-6	6.5-6
552	7.3	6.3		6.3	6.2	6.2	red	red	6.5-6	6.5-6
556	6.0	6.5		5.8	5.9	5.9	red	red	6.5-6	6.5-6
557	6.1	5.8			5.7		red	red	6.5-6	6.5-6
566	7.6	7.6		6.8	6.8	6.9	red	red	6.5-6	6.5-6
567	8.2	8.1	8.0	7.3	7.3	7.3	light red	pink	> 6.5	> 6.5
568	6.6	6.0	6.6	5.9	6.3	6.2	red	red	> 6.5	6.5-6
569	8.2	8.4	8.0	7.1	7.5	7.5	red	red	> 6.5	> 6.5
707*b*	8.5	8.0	7.6	7.2	7.4	7.3	colorless	colorless	> 6.5	> 6.5
728*a*	8.3	8.0	7.6	7.3	7.3	7.2	light red	colorless	> 6.5	> 6.5
728*b*	8.0	7.5	7.1	6.8	6.9	6.6	very light pink	colorless	> 6.5	> 6 5
729*a*	8.4	7.8	7.95	7.5	7.5	7.5	light red	very light red	> 6.5	> 6.5
729*b*	7.8	8.1	7.3	7.2	7.4	7.3	very light red	colorless	> 6.5	> 6.5
730	7.2	6.4	6.35	6.2	6.2	6.1	red	red	> 6.5	> 6.5
744*b*	8.2	7.9	7.5	7.5	7.6	7.4	red	red	> 6.5	> 6.5
745*b*	8.5	8.1	7.95	7.3	7.7	7.5	red	very light red	> 6.5	> 6.5
746*b*	8.3	8.5	7.6	7.4	7.6	7.3	very light pink	colorless	> 6.5	> 6.5
746*c*	8.2	8.3	7.95	7.5	7.3	7.5	light red	pink	> 6.5	> 6.5
747*b*	8.3	7.8	8.0	7.5	7.5	7.3	very light red	very light pink	> 6.5	> 6.5

TABLE II.

Deviations of different P_h values.

P_h	Nnmber of determi-nations	Quinhydrone	filtrate	centri-fugate	diffusate
8.6	2	— 0.8^5 (0.9^5)	— 1.2	— 1.2	— 1.1^5
8.5	8	— 0.6	— 1.3	— 1.2	— 1.2
8.4	1	— 0.6	— 0.9	— 0.9	— 0.9
8.3	8	— 0.4	— 1.1	— 0.9^5	— 1.1
8.2	7	— 0.1 (0.2)	— 0.9	— 0.8	— 0.8
8.1	2	+ 0.1	— 0.9	— 0.8^5	— 0.8^5
8.0	3	— 0.3^5 (0.5)	— 1.0	— 0.8	— 1.0
7.8	2	— 0.1^5 (0.4)	— 1.0	— 0.8^5	— 0.8^5
7.6	2	+ 0.5	— 0.7	— 1.2^5	— 0.7^5
7.4	1	— 0.4	— 0.6	— 0.6	— 0.6
7.3	2	— 0.7^5	— 0.8^5	— 0.8	— 0.9
7.2	1	— 0.8	— 1.0	— 1.0	— 1.1
6.6	3	— 0.1 (0.3)	— 0.5	— 0.4	— 0.3
6.1	1	— 0.3	—	— 0.4	—
6.0	2	— 0.1^5 (0.3)	— 0.2^5	— 0.1	— 0.3
5.8	1	— 0.0	— 0.4	— 0.0	— 0.3
4.7	1	— 0.2	— 0.1	— 0.2	— 0.1
4.6	1	+ 0.2	— 0.0	— 0.0	— 0.0

The values between ( ) are the average of the absolute values of the deviations.

TABLE III.

Value and number of deviations.

Dev.	quinh.	F.	C.	D.	Dev.	quinh.	F.	C.	E.
0.0	3	1	2	2	0.9	1	5	4	4
0.1	7	1	2	2	1.0	3	7	6	7
0.2	10	3	2	1	1.1	—	4	4	7
0.3	5	1	3	1	1.2	—	8	3	3
0.4	4	1	1	1	1.3	—	1	2	3
0.5	8	1	2	3	1.4	—	3	2	3
0.6	3	4	3	1	1.6	—	—	1	—
0.7	2	4	4	6	1.8	—	—	1	—
0.8	2	3	4	3	2.0	—	1	—	—

One colorimetric deviation was positive (0,2),
the quinhydrone method gave 5 deviations 0.1, 7 0.2, 1 0.3, and
1 0.5 which were positive.
N°. 557 is omitted in this table.

TABLE IV.

Comber — Hissink, Red Reagent.

Days.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.
No.										
101*b*	r.	l.r.	l.r.	l.r.	p.	p.	p.	p.	p.	p.
102	r.	r.	r.	r.	r.	r.	r.	cl.		
108*b*	l.r.	l.r.	v.l.r.	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.
145*b*	r.	r.	r.	r.	r.	r.	p.	p.	p.	p.
958	r.	r.	r.	r.	l.r.	l.r.	l.r.	p.	p.	p.
320*a*	r.	p.	v.l.r.	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.
321*a*	v.l.r.	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.		
322*b*	v.l.p.	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.
323	r.	r.	p.	l.p.	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.
333*b*	l.p.	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.
335*c*	l.r.	p.	cl.	cl.	v.l.p.	v.l.p.	v.l.p.	cl.	cl.	cl.
535*a*	l.r.	p.	v.l.r.	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.
535*c*	r.	r.	l.r.	l.p.	v.l.p.	v.l.p.	cl.	cl.	cl.	cl.
538	r.	r.				l.r.				
539	p.	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.
546*a*	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.
546*b*	r.	r.	r.	r.	r.	r.	r.	r.	r.	r.
548*b*	l.r.	p.	v.l.p.	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.
550	r.	r.	r.			cl.				
551*b*	l.r.	v.l.r.	v.l.r.	p.	l.p.	v.l.p.	cl.	cl.	cl.	r.
553	r.	r.	r.	r.	r.	r.	r.	r.	r.	r.
568	r.	r.	r.	r.	r.	r.	r.	r.	r.	r.
569	r.	r.				cl.				
728*a*	l.r.	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.		
728*b*	l.p.	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.		
729*b*	v.l.r.	cl.			cl.	cl.	cl.	cl.		
730	r.	cl.	r.	r.	r.	r.	r.	r.		
747*b*	v.l.r.	v.l.p.			cl.	cl.	cl.	cl.		

r. = red.
l.r. = light red.
p. = pink.
v.l.r. = very light red.
cl. = colorless.
l.p. = light pink.
v.l.p. = very light pink.

TABLE V.

Comber — Hissink, Colorless Reagent.

Days.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	30.
No.											
102	cl.	v.l.p.	v.l.p.	orange	orange	r.	r.	r.	r.	r.	r.
145*b*	v.l.p.	v.l.p.	v.l.p.	cl.	cl.	cl.	green	green			green
320*a*	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.			cl.
321*a*							cl.				cl.
323	cl.	cl.	cl.	cl.	green	green	green	green			green
335*b*								cl.			cl.
335*c*								cl.			cl.
535*c*	cl.	cl.	cl.	cl.	green	green	green	green			green
553	v.l.p	v.l.p.	p.	p.	p.	p.	p.	p.			p.
568	cl.	v.l.p.	v.l.p.	v.l.p.	v.l.p.	v.l.p.	v.l.p.	v.l.p.			v.l.p.
728*a*	cl.		cl.	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.			cl.
729*b*							cl.				cl.
730	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.	cl.			cl.
747*b*							cl.				cl.

cl. = colorless.
v.l.p. = very light pink.
r. = red.
p. = pink.

TABLE VI.

Differences between first reading of P_h value with quinhydrone electrode, and reading when constant.

No.	Differences.	No.	Differences.
101*b*	+ 0,1	539	+ 0,5
102	— 0,3	546*a*	0,0
105*a*	+ $0,3^5$	546*b*	— $0,3^5$
105*b*	0,0	549	0,0
108*b*	+ 0,1	551*b*	+ 0,5
244*a*	0,0	557	0,0
246	0,0	566	+ 0,1
255	0,0	567	— $0,0^5$
322*b*	— $0,2^5$	568	+ 0,2
335*b*	+ 0,2	728*a*	+ $0,0^5$
335*c*	0,0	728*b*	— 0,2
535*a*	0.0	730	+ 0,1
535*c*	0,0	746*c*	0,0
538	0,0	747*b*	+ 0,3

TABLE VII.

Antimony electrode.

Soil No.	Stirred after 2 minutes.	Not stirred after 2 minutes.	col. filter.	hydrogen electrode.
91*b*	7.5	8.2[5]	7.3	8.5
101*b*	7.1	7.9	7.0	7.6
102	5.7	6.2[5]	5.7	6.0
108*b*	7.4	7.5[5]	7.1	8.2
145*b*	6.5	7.0	6.8	7.4
244*b*	7.2	7.2	7.1	8.3
246	6.6	6.9	6.5	8.5
320*b*	7.5	8.5	7.2	8.6
322*b*	7.4	8.3	7.2	8.3
323	7.4[5]	7.6	7.3	8.5
324	7.4	7.7	7.3	8.5
335*c*	7.5	8.4	7.3	8.2
535*a*	6.0	6.4	7.1	8.0
535*b*	5.4	6.0	5.4	5.8
535*c*	6.3	7.1[5]	6.7	6.5
538	6.0	6.7	6.6	7.3
539	7.7	8.0[5]	7.1	8.1
546*a*	8.1	8.5[5]	7.6	8.6
546*b*	6.4	6.6	6.4	6.6
548*b*	7.8[5]	8.0	7.3	8.3
549	7.9	8.1	7.9	8.5
551*b*	6.4[5]	7.1[5]	6.1	6.6
567	8.0	8.2[5]	7.3	8.2
568	6.6	6.8	5.9	6.6
569	8.0	8.5[5]	7.1	8.2
707*b*	7.6	8.4	7.2	8.5
728*a*	7.6	8.1	7.8	8.3
728*b*	7.1	7.3	6.8	8.0
729*a*	7.9[5]	8.1	7.5	8.4
729*b*	7.3	7.8	7.2	7.8
730	6.3[5]	7.3	6.2	7.2
744*b*	7.5	7.8[5]	7.5	8.2
745*b*	7.9[5]	8.1	7.3	8.5
746*b*	7.5	8.2	7.4	8.3
746*c*	7.9[5]	8.2	7.5	8.2
747*b*	8.0	9.0	7.5	8.3

TABLE VIII.

Deviations and P_h Christensen and Jensen.

P_h	Number	Quinhydrone	Colorimetric
a. Deviations of loamsoils.			
8.2	1	+ 0,06	— 0,39
8.1	2	+ 0,03	— 0,47
8.0	2	+ 0,02	— 0,43
7.9	1	+ 0,05	— 0,46
7.8	3	+ 0,07	— 0,61
7.7	3		— 0,57
7.5	3	+ 0,03	— 0,24
7.4	4	+ 0,16	— 0,51
7.3	2	+ 0,09	— 0,28
7.2	3	+ 0,06	— 0,43
7.1	6	+ 0,00	— 0,36
7.0	3		— 0,42
6.9	2	+ 0,16	— 0,14
6.8	3	+ 0,02	— 0,32
6.7	2	+ 0,05	— 0,24
6.6	4	+ 0,14	+ 0,02
6.5	4	+ 0,07	— 0,10
6.4	4	+ 0,08	+ 0,04
6.3	4	+ 0,01	— 0,02
6.2	2	+ 0,03	+ 0,05
6.1	3	+ 0,05	+ 0,05
6.0	1	+ 0,10	+ 0,10
5.9	2	+ 0,08	+ 0,08
5.8	1	+ 0,02	+ 0,14
5.7	1	+ 0,00	— 0,16
5.6	2	+ 0,08	+ 0,08
5.4	2	+ 0,05	+ 0,09
5.3	2	+ 0,11	+ 0,23
5.2	1	+ 0,18	+ 0,25
5.1	2	+ 0,26	+ 0,27
b. sands.			
8.4	2	+ 0,04	— 0,87
8.3	1	— 0,04	— 0,74
8.2	2	+ 0,09	— 0,63
8.0	2	+ 0,13	— 0,68
7.9	4	+ 0,07	— 0,36
7.8	1	+ 0,06	— 0,64
7.6	2	— 0,01	— 0,64
7.5	2	— 0,02	— 0,44
7.4	3	+ 0,11	— 0,26
7.3	1	+ 0,08	— 0,42
7.1	4	+ 0,04	— 0,29
7.0	3	+ 0,20	— 0,18
6.8	6	+ 0,06	— 0,10
6.7	4	— 0,04	— 0,11
6.6	4	+ 0,10	— 0,09
6.5	3	+ 0,12	— 0,02
6.4	3	+ 0,05	+ 0,02
6.3	5	+ 0,03	+ 0,05
6.2	2	+ 0,03	+ 0,05
6.1	5	+ 0,02	— 0,05
6.0	5	+ 0,01	— 0,03
5.9	1	+ 0,12	+ 0,21
5.8	2	+ 0,05	+ 0,15
5.5	1	+ 0,12	
5.3	1	+ 0.08	+ 0.09
c. clays.			
8.6	1	— 0,10	— 0,65
8.3	1	— 0,06	— 0,79
8.2	2	+ 0,01	— 0,54
8.0	1	— 0,12	— 0,50
7.8	2	+ 0,05	
7.7	2	+ 0,07	— 0,58
7.6	1	+ 0,32	— 0,57
7.5	1	+ 0,08	— 0,31
7.2	2	+ 0,20	
7.1	1	+ 0,04	— 0,37
7.0	1	0,00	
6.8	2	+ 0,06	— 0,14
6.6	1	+ 0,08	
6.5	1	+ 0,08	
d. humic soils.			
6.9	1	— 0,10	
6.6	1	+ 0,14	
60	1	+ 0,08	
5.7	1	— 0,08	— 0,08
5.6	1	+ 0,08	+ 0,03
5.5	1	— 0,02	+ 0,06
5.2	1	— 0,02	+ 0,25
5.1	2	+ 0,01	+ 0,33
4.8	1	— 0,06	
4.7	1	+ 0,08	
4.2	1	— 0,01	
4.1	2	+ 0,14	
3.6	1	— 0,10	
e. African coffee soils (laterite).			
7.2	1	+ 0,21	— 0,22
7.1	1	+ 0,51	— 0,43
6.9	1	+ 1,44	— 0,33
6.7	1	+ 1,42	— 0,19
6.6	1	+ 1,65	— 0,27
6.4	1	+ 1,58	— 0,17
6.3	1	+ 1,63	— 0,17
6.1	1	+ 1,92	— 0,07
5.9	1	+ 1,88	— 0,04
5.8	1	+ 2,20	+ 0,13

TABLE IX.

GAINEY

P_h values and deviations.

P_h	Number of determinations	deviation	P_h	Number of determinations	deviation
3.7	1	+ 0,67	6.4	5	+ 0,15
3.8	2	+ 0,81	6.5	9	— 0.30
4.0	3	+ 0,59	6.6	4	— 0,02
4.1	2	+ 0.40	6.7	11	— 0,09
4.2	4	+ 0,48	6.8	12	— 0,21
4.3	1	+ 0,29	6.9	5	— 0,16
4.4	1	+ 0,25	7.0	10	— 0,21
4.5	3	+ 0,23	7.1	9	— 0,19
4.6	4	+ 0,23	7.2	12	— 0,28
4.7	9	+ 0,21	7.3	12	— 0,13
4.8	8	+ 0,09	7.4	7	— 0,19
4.9	13	+ 0,08	7.5	13	— 0,20
5.0	17	+ 0,13	7.6	12	— 0,21
5.1	15	+ 0.22	7.7	10	— 0,34
5.2	12	+ 0,25	7.8	6	— 0,42
5.3	16	+ 0.21	7.9	2	— 0,79
5.4	13	+ 0,16	8.0	2	— 0,63
5.5	20	+ 0,17	8.1	4	— 0,57
5.6	12	+ 0,04	8.2	3	— 0,56
5.7	11	— 0,001	8.3	3	— 0,70
5.8	11	+ 0,07	8.4	1	— 1,01
5.9	14	+ 0,06	8.5	1	— 1,02
6.0	14	— 0,05	8.6	—	—
6.1	13	— 0,08	8.7	1	— 1,05
6.2	12	— 0,06	8.8	1	— 0,67
6.3	9	— 0,02			

TABLE X.

GAINEY.

Value and number of deviations.

Differences.	Number.	Differences.	Number.
0,0	45 ×	0,7	16 ×
0,1	92	0,8	6
0,2	75	0,9	3
0,3	67	1,0	3
0,4	41	1,1	2
0,5	28	1,2	1
0,6	19		

TABLE XI.

CARLETON.

P_h values and deviations.

P_h	Number	Deviation	P_h	Number	Deviation
4.8	2	+ 0,20	5.9	1	+ 0,15
4.9	3	— 0,28	6.0	3	— 0,07
5.0	2	+ 0,15	6.1	1	+ 0,15
5.1	6	— 0,09	6.2	1	— 0,11
5.2	3	— 0,01	6.3	1	— 0,06
5.3	3	— 0,08	6.4	2	— 0,02
5.4	7	0,00	6.6	4	+ 0,03
5.5	1	+ 0,03	6.7	1	+ 0,06
5.6	3	+ 0,22	7.0	3	0,00
5.7	1	+ 0,10	7.3	1	+ 0,07
5.8	1	+ 0,07	7.6	1	+ 0,01

TABLE XII.

CARLETON.

Value and number of deviations.

Deviation	Number	Deviation	Number
0,0	20	0,3	5
0,1	21	0,4	1
0,2	2	0,5	2

TABLE XIII.

„REAKTIOMETER" OF KÜHN.

Number	P_h	Number	P_h
91*b*	8.1	707*b*	8.3
101*b*	8.1	728*b*	8.0
108*b*	8.2	729*a*	8.5
322*b*	8.3	729*b*	8.1
323	8.3	744*b*	8.3
324	8.5	745*b*	8.4
569	8.2	747*b*	8.3

LITERATURE CITED.

1. AARNIO, B., SALMINEN, A., Die Aenderung der Reaktion durch Altern der Bodenproben. (Comptes Rendus de la Deuxième Commission de l'Association internationale de la Science du sol. Vol. **B**, pp. 30—33, Groningen 1927).

2. AARNIO, B., Die Veränderung des Aziditätsgrades durch Trocknen der Bodenproben. (Bulletin of the Agrogeological Institution of Finland, N°. **26**, Helsinki 1928).

3. ARND, Th., SIEMERS, W., Zur Methodik der pH-Bestimmung mit der Chinhydron-Methode. (Zeitschrift für Pflanzenernährung und Düngung, Bd. **7** A. 1926, pp. 191 etc.).

4. ARND, Th., HOFFMANN, W., Die Bestimmung des Reaktionszustandes von Moorböden. (Zeitschr. f. Pflanzenernährung, Düngung und Bodenkunde, Bd. **X**, 1928, Heft 4, pp. 219—231).

5. ARRHENIUS, O., The potential Acidity of Soils. (Soil Science **14**, 1922, pp. 223—232).

6. —— , Der Kalkbedarf des Bodens vom pflanzenphysiogischem Standpunkte. (Zeitschrift für Pflanzenernährung und Düngung, 1924, **A**, pp. 129, etc.).

7. —— , Soil Acidity, Statements. (Comptes Rendus de la Deuxième Commission de l'Association internationale de la Science du sol. Vol. **A**. Groningen 1926, pp. 41—42).

8. —— , Kalkfrage, Bodenreaktion und Pflanzenwachstum. Leipzig 1926.

9. —— , VAN HARREVELD—LAKO, C. H., Grondonderzoekingen van de Buitenbezittingen. (Archief voor de Suikerindustrie in Nederlandsch Indië, **III**, 1927, N°. 18).

10. ATKINS, W. R. G., Notes on the filtration and other errors in the determination of the Hydrogen-ion concentration of Soils. (Royal Dublin Society of Science, Proceedings, new series, **17**, 1924, (44), pp. 341—347).

11. BAREN, J. VAN., Catalogus der Geologische en Agrogeologische verzamelingen van de Landbouwhoogeschool. (Mededeelingen van de Landbouwhoogeschool, **XXVII** 1924, verh. 8. (Wageningen).

12. BAREN, J. VAN., Microscopical, physical and chemical studies of limestones and limestone-soils from the East Indian Archipelago. (Communications of the Agricultural University, Wageningen Holland, **32**, 7, 1928).

13. BARNETTE, R. M., HISSINK, D. J., VAN DER SPEK, J., Some remarks on the determination of the hydrogen-ion concentration of the Soil. (Recueil des Travaux chimiques des Pays-Bas (**4**), 5 May 1924).

14. ——, ——, ——, De colorimetrische bepaling van den zuurgraad van den grond. (Chemisch Weekblad, Jrg. **21**, 1924 (12), pp. 147, etc.).

15. BAVER, L. D., Factors affecting the Hydrogen-ion Concentration of soils. (Soil Science, **23**, 1927, pp. 399—414).

16. ——, The use of the Quinhydron-electrode for Measuring the Hydrogen-ion Concentration of Soils. (Soil Science, **22**, 1926, pp. 167—179).

17. BILLMANN, E., On the Measurement of Hydrogen-ion Concentration in Soil by means of the Quinhydrone electrode. (Journal of Agricultural Science, **XIV**, 1924, pp. 233, etc.).

18. ——, Some Remarks on the Application of the Quinhydrone electrode for Soil Researches. (Compt. Rend. Deux. Comm. de l'Assoc. intern. de la Science du Sol, Vol. **B**, Groningen 1927, pp. 175—178).

19. ——, Bemerkungen über die Anwendung des Chinhydrons bei Bodenuntersuchungen. (Ibid., Vol. **B**, Groningen, 1927, pp. 194—198).

20. BILLMANN, E., TOVBORG-JENSEN, S., On the Determination of the Reaction of Soils by means of the Quinhydrone electrode. (Ibid., Vol. **B**., Groningen 1927, p. 236 etc.).

21. BIJHOUWER, J. T. P., Geobotanische studie van de Berger Duinen. Deventer 1926.

22. BJERRUM, NIELS, GJALDBACK, J., Undersoegelser over de Faktorer Som bestemmer Jordbundens Reaktion. I. Om Bestemmelse af en Jords sure eller basische Egenskaber. II. Om Reaktion af Vaedsker som er maettet med Kalziumkarbonat. (Meddelelse fra kemisk Lab. Kgl. Veterin og Landbohoegskole. Kopenhagen. Aarskrift 1919).

See also: Internationale Mitteilungen für Bodenkunde **1919**, pp. 95—98.

23. BRENNER, Widar, Ueber die Reaction Finnländischer Böden. (Agrogeologska Meddelanden, N°. **19**, Helsingfors 1924).

24. BRIOUX, CH., PIEN, J., Emploi de l'électrode a quinhydrone pour la détermination du P_h des sols. (Compt. Rend. Deux. Comm. de l'Assoc. intern. de la Science du sol. Vol. **A.**, Groningen 1926, pp. 22—24).

25. ——, ——, Recherches complémentaires sur l'électrode à quinhydrone appliqué à la détermination du pH des Sols. (Ibid., Vol. **B**, Groningen 1927, pp. 5—7).

26. BURGESS, P. S., The Hydrogen-ion Concentration of Soils as affected by drying. (Science, new series, **55**, 1922, pp. 647—648).

27. CARLETON, Everett, A., A comparison of the Jones Calcium-Acetate Method for Lime Requirement with the Hydrogen-ion Concentration of some Quebec Soils. (Soil Science, **14**, 1923, pp. 79—93).

28. CHODAT, F., La Concentration en ions Hydrogène du Sol et son importance pour la constitution des formations végétables. Genève 1924.

29. CHRISTENSEN, Harold, R., Untersuchungen über einige neuere Methoden zur Bestimmung der Reaktion und des Kalkbedürfnisses des Erdbodens. (Int. Mitt. für Bodenkunde, **13**, 1923(pp. 116—147).

30. CHRISTENSEN, H. R., TOVBORG-JENSEN, S., Undersoegelser verdrörende elektrometriske metoder til bestemmelse af jord-reaktionen. (Tidskrift for planteavl. **29**, 1923).

31. ——, ——, Untersuchungen bezüglich der zur Bestimmung der Bodenreaktion benutzten electrometrischen Methoden. (Int. Mitteilungen für Bodenkunde, **XIV**, 1924.

32. ——, The acidity of Soils. (Actes de la IVème Conférence Internationale de Pédologie, vol. **II**, pp. 509—515, Rome 1926).

33. CLARK, Norman Ashwell, EMERSON, COLLINS, R., The Quinhydrone electrode and the Soil-Reaction. (Soil Science, **24**, 1927, pp. 453—465).

34. CLARK, W. M., The determination of hydrogen ions. 2nd ed.. Baltimore 1925.

35. COMBER, Norman M., A qualitative test for sour soils. (Journal of Agricultural Science, **XX**, 1920, pp. 420—424).

36. ——, The Determination of Soil Acidity. (Report of the Proceedings of the Second Commission, Groningen 1926, Washington 1927, Vol. **I**, pp. 224—230).

37. FRANKE, K. W., WILLAMAN, J. J., Measurement of Hydrogen Ion Concentration in the mole of pulp and paper manufacture. (Journ. Ind. Eng. Chemistry, 1928, **20**, pp. 87—95).

38. GAINEY, P. L., Influence of the absolute reaction of a Soil upon its Azotobacter flora and nitrogen fixing ability. (Journal of Agricultural Research, **24**, 1923, pp. 907—938).

39. McGEORGE, W. T., The influence of Manganiferous Soils on the accuracy of the quinhydrone electrode. (Soil Science, **27**, 1928, pp. 83—89).

40. GERRETSEN, F. C., Over den invloed van de waterstofionen-concentratie op bacteriologische processen. (Verslagen van de landbouwkundige Onderzoekingen der Rijkslandbouw-Proefstations, **XXX**, 1925, p. 1—45).

41. GILLESPIE, L. J., Colorimetric Determination of Hydrogen-ion Concentration without Buffer Mixtures, with especial Reference to Soils. (Soil Science, **9**, 1920, pp. 115—136).

42. GÖRBING, J., Säureschäden bei Getreidearten (Deutsche Landwirtschaftliche Presse, **50**, 1923, (42), p. 352).

43. HEALY, D. J., KARRAKER, P. E., The Clark hydrogen-electrode vessel and soil measurements. (Soil Science, **13**, 1922, pp. 323—328).

44. ——, Colorimetric measurements of the reaction of air-dried soils. Proceedings and Papers of the First International Congress of Soil Science, Washington 1928, Vol. **II**, pp. 107—110).

Kolorimetrische Messung der Reaktion in Luftgetrockneten Böden. (Abstracts of the Proceedings etc., Washington 1928, p. 19).

45. HETTERSCHY, C. W. G., HUDIG, J., De bepaling van de waterstofionen concentratie in vloeistoffen en suspensies. Toepassing van de chinhydronmethode van Emar BILLMANN in de praktijk. (Chemisch Weekblad, **23**, 1926, pp. 2—3).

46. HISSINK, D. J., Een eenvoudige en snelle methode, die ons in staat stelt een indruk van den zuurgraad van den grond te krijgen. (Chemisch Weekblad, **19**, 1922, pp. 281—283).

47. —— , De methode COMBER voor het schatten van den zuurgraad van den grond. (Verslagen van de Landbouwkundige Onderzoekingen der Rijkslandbouwproefstations, **XXXI**, 1926, p. 250).

48. —— , VAN DER SPEK, J., Die pH Bestimmung des Bodens nach der BILLMANN'schen Chinhydron-Methode. (Compt. Rend. Deux. Comm. de l'Assoc. intern. de la Science du Sol. Vol. **A.**, Groningen 1926, pp. 29—40).

49. —— , —— , De potentiometrische methode ter bepaling van den zuurgraad van den grond (pH). (Verslagen van de Landbouwkundige Onderzoekingen der Rijkslandbouw-proefstations, **XXXI**, 1926, pp. 241—250).

50. HUDIG, J., STURM, W., Het meten van waterstofionen-concentraties in bodemextracten en bodemsuspensies. (Verslagen Landbouwkundige Onderzoekingen der Rijkslandbouwproefstations, **XXIII**, 1919, pp. 85—128).
See also: Chemisch Weekblad, **16**, 1919, p. 472.

51. KAPPEN, H., Studien an sauren Mineralböden aus der Nähe von Jena. (Die Landwirtschaftlichen Versuchsstationen, **88**, 1916, p. 78).

52. —— , etc., Wesen, Bedeutung, und Bestimmung der sogenannten Bodenazidität. (Zeitschrift für Pflanzenernährung und Düngung, 1924, **A.**, Wiss. Teil, pp. 209—257).

53. —— , BELING, R. W., Ueber die Chinhydron-electrode und über die Beziehungen ihrer Resultate zu den Aziditätsformen der Böden. (Ibid., **A**, II, 1926, pp. 1—26).

54. KNICKMANN, Erich., Untersuchungen zur Frage der Bodenazidität. (Zeitschrift für Pflanzenernährung und Düngung, A., **5**, 1925, pp. 1—90).

55. KOLTHOFF, I. M., Die Verwendung der Chinhydron statt der Wasserstoffelectrode bei potentiometrischen Aziditätsbestimmungen. (Recueil des travaux chimiques des Pays-Bas, **42**, 1923, pp. 186—199).

56. —— , De colorimetrische bepaling van den waterstof-exponent van den grond. (Chemisch Weekblad, **20**, 1923, pp. 675, etc.).

57. KOLTHOFF, I. M., Der Gebrauch von Farbenindicatoren, 2nd. Edition, Berlin 1923, 3rd Edition, Berlin 1926.

58. —— , Der Salzfehler von Indicatoren in Electrolytarmen Lösungen. (Recueil des travaux chimiques des Pays-Bas, **44**, 1925, pp. 275—278).

59. —— , HARTONG, B. D., The Antimony Electrode as an Indicator for Hydrogen Ion Concentration. (Ibid., **44**, 1925, pp. 113—120).

60. —— , BOSCH, W., De toepassing der chinhydronelectrode in vloeistoffen met een geringe buffercapaciteit. (Chemisch Weekblad, **24**, 1927, p. 79).

61. NIKLAS, H., HOCK, A., Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration von Böden auf colorimetrischem Wege. (Zeitschrift für Angewandte Chemie, **38**, 1925, p. 150).

62. —— , —— , Vergleichung der Methoden zur Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration von Böden. (Die Landwirtschaftlichen Versuchsstationen, C, **IV**, 1925, pp. 86—91).

63. OLSEN, Carsten, Studies on the Hydrogen-ion Concentration of the soil and its Significance to the Vegetation especially to the Natural Distribution of Plants. (Comptes-Rendus des Travaux du Laboratoire Carlsberg, **15**me Volume I, Copenhaque 1923).

64. —— , LINDERSTRÖM LANG, On the Accuracy of the various methods of measuring concentration of Hydrogen-ions in Soil. (Ibid., **17**me Volume, I, Copenhague 1927).

65. OOSTING, W. A. J., STAF, C., Over het zuurgraadprofiel van eenige Nederlandsche boschgronden. (Nederlandsch Boschbouw Tijdschrift, **I**, 1928, p. 64).

66. PIERRE, W. H., The Hydrogen-ion Concentration of Soils as affected by Carbonic Acid and the Soil-water Ratio and the Nature of Soil Acidity as Revealed by these Studies. (Soil Science, **20**, 1925, pp. 285—307).

67. —— , PARKER, F. W., The use of Collodion sacks in soil Investigations. (Proceedings and Papers of the First Int. Congress of Soil Science, Vol. **II**, pp. 396—413, Washington 1928).

68. ROST, C. O., FIEGER, E. A., Effect of drying and storage upon the hydrogen-ion concentration of soil samples. Soil Science, **16**, 1924, pp. 145—170).

69. —— , —— , The Effect of drying upon the acidity of soil samples. (Science, **60**, 1924, p. 297).

70. SAGER, J. L., Studies in Soil acidity. Cambridge 1923.

71. SALTER, R. M., MORGAN, M. T., Factors effecting soil reaction. (Journal of Physical Chemistry, **27**, 1923, pp. 117—140).
72. SHARP, L. T., HOAGLAND, D. R., Acidity and Adsorption in Soils as measured by the Hydrogen-electrode. (Journal of Agricultural Research, **7**, 1916, pp. 123—145).
73. ——, ——, Relation of CO_2 to soil reaction as measured by the Hydrogen electrode. (Journal of Agricultural Research, **12**, 1918, p. 139).
74. SNIJDER, E. F., A comparative study of the Quinhydrone and Hydrogen Electrodes for determining the Hydrogen-ion Concentration of Soils. (Journal of Agricultural Research, **35**, 1927, pp. 825—835).
75. ——, The application of the Antimony electrode to the Determination of the P_h value of Soils. (Soil Science, 26, 1928, pp. 107, etc.).
76. SWANSON, C. O., GAINEY, P. L., LATSHAW, W. L., The Calcium content of Soil in relation to absolute reaction. (Soil Science, **17**, 1924, pp. 181—191).
77. TRENEL, M., Azidimeter. Siemens und Halske A.G., Berlin—Siemensstadt, w.y.
78. ——, Ein tragbares Gerät zur electrischen Bestimmung der Bodenazidität. (Internationale Mitteilungen für Bodenkunde, 1924, p. 27).
See also: Actes de la IVème Conf. Intern. de Pédologie, **II**, 1926, p. 451; Zeitschrift für Pflanzenernährung und Düngung, **A.**, 1925, p. 239).
79. TERLIKOWSKI, F., Zur Methodik der potentiometrischen pH-Bestimmung des Bodens. (Compt. Rend. Deux. Comm. de l'Assoc. intern. de la Science du sol). Groningen 1927, Vol. **B.**, pp. 151—155).
80. TRUOG, A., PIERRE, W. H., Determining H-ion concentration of Soils. (Wisconsin Station Bulletin **388**, 1926; Experiment Station Record, **56**, 1927, pp. 715).
81. Die Natur der Bodenazidität. (Compt. Rend. Deux. Comm. de l'Assoc. intern. de la Science du sol. Groningen 1927, Vol. **B**, pp. 40—44).
82. Die Bestimmung der Bodenazidität. (Ibid., Groningen 1927, Vol. **B**, pp. 52—64).
83. Zur Bestimmung und Beurteilung der Bodenazidität. (Ibid., Groningen 1927, Vol. **B.**, pp. 77—79).

STRALINGSMETINGEN TE WAGENINGEN

DOOR

PROF. DR. D. VAN GULIK.

Stralingsmetingen te Wageningen, door Prof. Dr. D. van Gulik.

Het komt in den laatsten tijd herhaaldelijk voor, dat van de andere Afdeelingen der Landbouwhoogeschool tot mij de vraag komt naar de „zonnestraling" gedurende een bepaalde periode of op bepaalde dagen van het loopende zomerseizoen of van vroeger, en onlangs is een artikel van Dr. SIRKS verschenen [1]), waarin van de verstrekte gegevens was gebruik gemaakt. Om het voldoen aan deze wenschen te vergemakkelijken en tevens de aandacht meer algemeen te vestigen op de uitkomsten mijner registreeringen, komt het mij gewenscht voor de tot heden verkregen getalwaarden te publiceeren; zij hebben betrekking op de zomermaanden der vier opeenvolgende jaren 1926 tot en met 1929. De getallen der Tabel stellen de z.g. dagsommen voor, dus voor elken dag het totale bedrag der ontvangen stralingsenergie van zonne- en hemelstraling gezamenlijk per c.m^2. van het horizontale aardoppervlak, uitgedrukt in gramcalorieën. De registreeringen hebben plaats gehad op de vroeger door mij aangegeven wijze [2]) met behulp van een solarimeter met watermantel volgens Dr. BURGER. Voor het gemak van den gebruiker zijn de daggemiddelden der onderscheidene dekaden in de Tabel aan de gegevens toegevoegd. Voor zoover deze waarden iets afwijken van de vroeger gepubliceerde, is dit het gevolg van een correctie na herijking van mijn Amerikaanschen „standaard"-solarimeter door Prof. MARTEN.

Wie voor zijn onderzoek meer gedetailleerde gegevens wenscht omtrent de wijze van verdeeling der gegeven dagsom over den duur van den dag, dit bijv. met het oog op het werken der bijen (bestuiving) kan op mijn laboratorium de geregistreerde diagrammen op dit punt nader bestudeeren. Inderdaad kunnen twee dagen met vrij gelijke dagsommen een zeer groot verschil in „stralingskarakter" vertoonen.

Mocht men om eenige reden, bijv. ter vergelijking met andere publicaties, in plaats van mijne absolute metingen in calorieën, het aantal zonneschijnuren noodig hebben, dan kan men van deze grootheid (n) een benaderd bedrag berekenen uit de formule van °ANGSTRÖM:

$$Q = Q_0 \ (0{,}25 + 0{,}75 \ \frac{n}{N}),$$

waarin Q de gegeven dagsom voorstelt, Q_0 de maximale dagsom en N het maximum aantal zonne-uren (daglengte). Beide laatste veranderen

---

[1]) Genetica, XI, 1929, p. 375.
[2]) Mededeelingen, Dl. 31, verh. 8.

regelmatig met den tijd van het jaar en zijn af te leiden uit de grafiek op blz. 7.

Hierbij valt nog het volgende op te merken. De dagsommen zijn bepaald op de vroeger [1]) aangegeven wijze door planimetreering der solarigrammen van den „threadrecorder"; die van het laatste jaar nog gecontroleerd, en op dagen met snel wisselende bewolking ook gecorrigeerd, met de diagrammen van mijn mechanischen integrator. Dit laatste instrument was verbonden aan een solarimeter van Kipp, zonder watermantel, met glazen halfbol van 5 c.m. middellijn. [2])

Het is n.l. gebleken [3]), dat de vroeger gebruikte halfbol van 3 c.m., door inwendige terugkaatsing een brandlijn vormde, die bij lageren zonnestand over de thermoëlementen viel. Inderdaad bleek mij, bij onderzoek of de bestraling door een evenwijdigen lichtbundel bij loodrechten inval en bij inval onder hoeken van 30°, 60° en 75° de cosinuswet volgde, dat hierbij afwijkingen van vele procenten voorkwamen. Bij onderzoek van den halfbol van 5 c.m. viel een groote verbetering te constateeren, doch een zeer schuine bestraling leverde nog te kleine bedragen op, wat ongetwijfeld veroorzaakt werd door verlies wegens terugkaatsing op het zwarte oppervlak der thermoëlementen, en daarom na lichte beroeting aanmerkelijk verbeterde.

De solarimeter met watermantel, waarvan de binnenste halfbol nog van het kleine type is, bleek, tot mijn verrassing, met een voor de toepassing voldoende nauwkeurigheid aan de cosinuswet te beantwoorden. Blijkbaar hebben wij hier met de gelukkige omstandigheid te doen, dat de verschillende factoren elkaar opheffen. Het zal n.l. duidelijk zijn, dat in dit instrument nog een vervorming van een evenwijdig invallende lichtbundel te verwachten is bij de overgang in en uit den watermantel.

Ten slotte nog een korte mededeeling van de resultaten verkregen met den, eveneens in mijn vorig artikel genoemden, electrolytischen integrator. Deze toestel heeft gedurende het afgeloopen zomerhalfjaar onafgebroken gewerkt in aansluiting met een derden solarimeter van Kipp, zonder watermantel en met halfbol van 5 c.m.

Aangezien de weerstand van den stroomkring hier grootendeels zetelt in het electrolyt, fosforzuur, en deze vloeistof mij gebleken was

[1]) Loc. cit.

[2]) Aansluiting van beide instrumenten aan eenzelfden solarimeter gaat niet, omdat de bewegingen van den integrator stroomen induceeren, die den „recorder" storen.

[3]) M. Weather Rev. 55, 1927, p. 488.
„ „ „ 43, 1915, „ 266.

een temperatuur-coëfficiënt van twaalf pro mille te vertoonen, is hier temperatuurcorrectie noodzakelijk. Daarom was het toestel opgesteld in een lokaal op het noorden, binnen een eiken kastje, dat met watten was gecapitonneerd. Een thermometer, die doordrong tot binnen het metalen omhulsel, stak aan den anderen kant boven het kastje uit, en werd elken middag om twee uur afgelezen.

Wegens het optreden van polarisatie der electroden, waarop ik vroeger reeds wees, is echter de (op gelijke temperatuur gereduceerde) hoeveelheid waterstof hier niet evenredig aan de stralingssom. Het gelukt echter, na onderzoek der gasontwikkeling onder verschillende, constant gehouden, bekende spanningen, en bij enkele vereenvoudigende veronderstellingen, een curve te construeeren, die bij gegeven hoeveelheid waterstofgas getallen laat aflezen, die met de stralingssommen wel evenredig zijn. Of beter, twee dergelijke curven, waarvan de eene betrekking heeft op daglengten van ongeveer twaalf uren en de andere curve op die van veertien uren en langer. [1]) Vergelijking met de op andere wijze verkregen dagsommen leert dan de reductie-coëfficiënt vinden, die de evenredigheidsgetallen der grafiek omzet in caloriëen. De toestel zou dan geijkt zijn voor absolute metingen, maar, wegens zijn ongevoeligheid, slechts voor dekaden- en maandsommen.

Deze dekadensommen wijken dan van die van den mechanischen integrator nog dikwijls meer dan 5 % af, een bedrag dat bij vergelijking van laatstgenoemde met de registreeringen van den threadrecorder niet voorkomt, ofschoon het hier in den aard der zaak ligt, dat verschillen optreden, omdat deze beide instrumenten zijn verbonden met solarimeters van verschillend type.

---

[1]) Over het algemeen toch ontwikkelt eenzelfde dagsom bv. in Maart meer gas dan in Juni, omdat dezelfde stralingssom in het laatste geval over een langeren duur is verdeeld geweest en derhalve zwakker was; en een zwakkere straling geeft een naar evenredigheid te geringe gasontwikkeling, wegens de polarisatie.

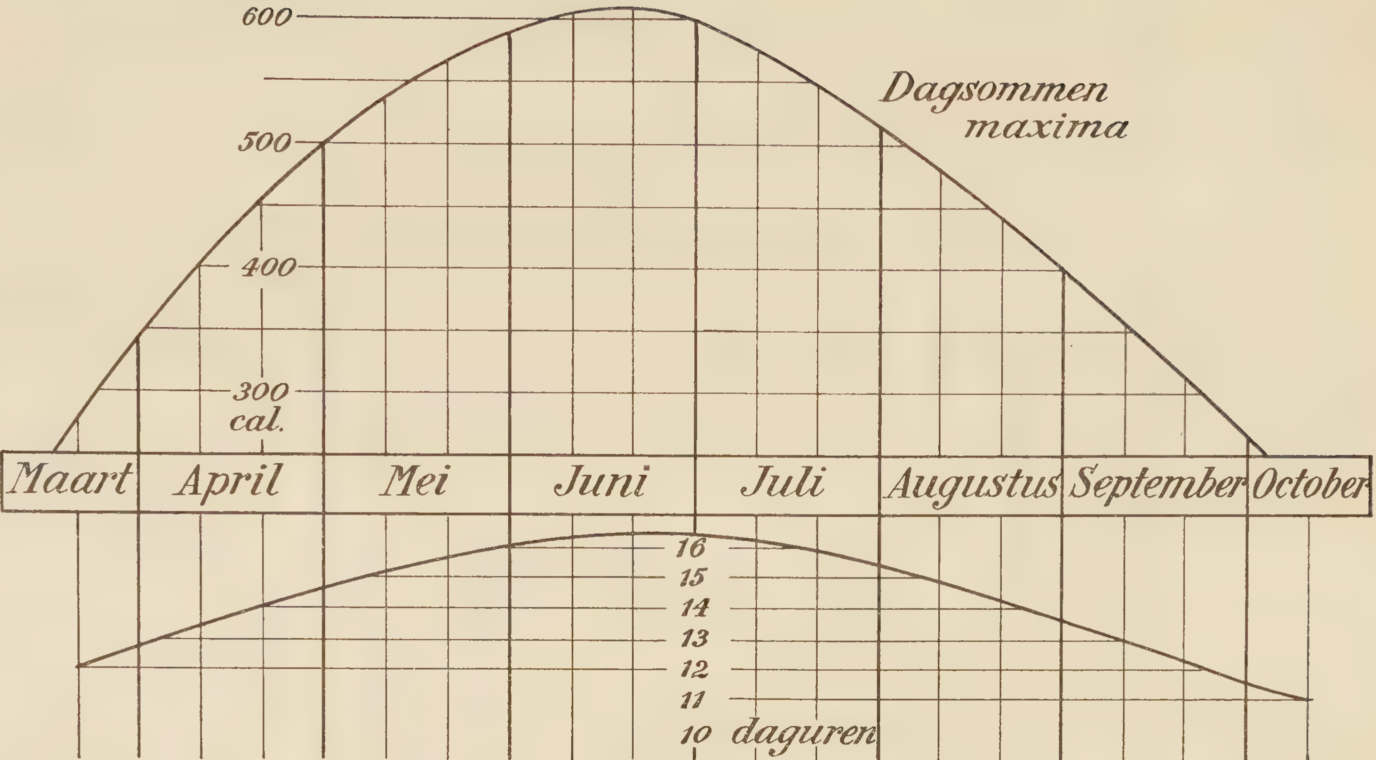
SUMMARY.

The amounts of the sums of daily radiation from sun and sky, on a horizontal surface, registered at Wageningen, are given for the last four summers. The solarimeter used was of the type with watercover, discribed in this papers Deel 31, Verhandeling 8.

Experimental investigation of the effect of obliquely inciding radiation, solarimeters with watercover and those with coverglasses 5 c.m. in diameter give satisfactory results.

Dubious results have been obtained from the electrolytic integrator, a serious correction for variations of temperature wanted.

The mechanically recording integrator (see: loc. cit.) has been operating continually in a perfect way.


600
500
400
300
cal.
Dagsommen
maxima
Maart
April
Mei
Juni
Juli
Augustus
September
October
16
15
14
13
12
11
10
daguren

TABEL.

BESTRALING VAN HET HORIZONTALE AARDOPPERVLAK (ZON PLUS HEMEL) TE WAGENINGEN.

DAGSOMMEN EN DEKADENGEMIDDELDEN, IN CALORIEËN PER c.M^{2}.

MAART

	1926	1927	1928		1929	
21			310		100	
22			170		150	
23			305		155	
24		210	160		210	
25		250	285		50	
26		185	290	gem. 215 cal.	70	gem. 185 cal.
27	250	225	200		265	
28	185	325	110		300	
29	265	215	240		270	
30	160	120	90		185	
31	280	160	180		190	

APRIL

	1926		1927		1928		1929	
1	325		100		190		130	
2	280		275		135		205	
3	315		100		285		250	
4	265		195		165		270	
5	215		250		300		90	
6	370	gem. 250 cal.	120	gem. 195 cal.	265	gem. 285 cal.	255	gem. 195 cal.
7	240		90		375		145	
8	110		200		330		295	
9	215		215		440		120	
10	160		405		350		185	
11	200		275		325		50	
12	390		235		135		135	
13	410		245		105		140	
14	380		45		230		110	
15	400		270		105		350	
16	250	gem. 305 cal.	300	gem. 255 cal.	105	gem. 215 cal.	365	gem. 245 cal.
17	310		415		315		360	
18	260		275		320		350	
19	125		240		300		340	
20	330		225		220		265	
21	180		165		235		350	
22	270		225		285		460	
23	300		300		440		325	
24	200		210		425		275	
25	245		180		440		395	
26	190	gem. 250 cal.	330	gem. 280 cal.	420	gem. 340 cal.	220	gem. 275 cal.
27	220		470		400		145	
28	275		300		390		375	
29	400		205		160		115	
30	230		430		210		95	

MEI

	1926	1927	1928	1929
1	330	435	445	275
2	490	430	385	325
3	370	405	470	365
4	255	430	530	360
5	260	395	510	235
6	350	445	500	310
7	280	480	520	330
8	215	530	320	335
9	365	515	450	270
10	250	260	455	315
	gem. 315 cal.	gem. 435 cal.	gem. 460 cal.	gem. 310 cal.
11	300	465	500	470
12	285	230	150	345
13	420	515	325	400
14	275	195	300	265
15	110	160	250	215
16	150	235	280	445
17	210	240	240	300
18	360	590	260	130
19	395	555	385	530
20	360	545	335	520
	gem. 285 cal.	gem. 375 cal.	gem. 305 cal.	gem. 360 cal.
21	500	350	310	500
22	420	240	145	425
23	215	345	380	475
24	330	110	235	370
25	530	570	165	455
26	530	410	485	440
27	490	335	430	470
28	155	360	465	470
29	240	295	485	430
30	110	430	445	540
31	290	335	270	385
	gem. 345 cal.	gem. 345 cal.	gem. 345 cal.	gem. 450 cal.

JUNI

	1926		1927		1928		1929	
1	460		225		545		470	
2	340		165		570		130	
3	300		240		575		145	
4	590		365		485		240	
5	460		455		385		355	
6	110	gem. 335 cal.	200	gem. 295 cal.	390	gem. 395 cal.	280	gem. 305 cal.
7	400		280		220		410	
8	165		250		245		275	
9	200		460		215		400	
10	315		280		295		365	
11	395		505		475		485	
12	250		235		550		335	
13	200		360		545		230	
14	340		390		355		265	
15	390		375		420		280	
16	365	gem. 310 cal.	540	gem. 365 cal.	355	gem. 400 cal.	160	gem. 360 cal.
17	175		310		390		375	
18	210		420		455		530	
19	350		220		190		480	
20	430		265		270		470	
21	135		510		450		425	
22	410		540		300		200	
23	385		355		510		230	
24	605		155		515		300	
25	330		410		520		140	
26	285	gem. 400 cal.	180	gem. 365 cal.	245	gem. 425 cal.	145	gem. 320 cal.
27	430		485		245		200	
28	405		270		390		560	
29	450		375		555		560	
30	575		385		500		430	

JULI

	1926		1927		1928		1929	
1	500	gem. 345 cal.	245	gem. 355 cal.	365	gem. 405 cal.	145	gem. 280 cal.
2	300		200		560		315	
3	515		260		385		215	
4	290		430		400		245	
5	105		545		505		325	
6	285		400		290		295	
7	275		400		360		300	
8	350		400		525		250	
9	420		125		180		295	
10	425		520		480		425	
11	420	gem. 435 cal.	330	gem. 300 cal.	510	gem. 460 cal.	445	gem. 470 cal.
12	530		420		480		445	
13	550		390		520		505	
14	520		220		540		540	
15	450		260		455		520	
16	500		265		510		530	
17	485		290		550		435	
18	490		145		490		440	
19	245		195		240		465	
20	150		495		295		385	
21	320	gem. 350 cal.	220	gem. 345 cal.	355	gem. 345 cal.	460	gem. 320 cal.
22	465		310		520		355	
23	410		175		315		430	
24	400		360		275		215	
25	400		350		420		450	
26	365		360		450		410	
27	535		400		280		220	
28	285		305		175		450	
29	315		465		360		120	
30	190		445		370		260	
31	150		425		270		150	

AUGUSTUS

	1926		1927		1928		1929	
1	450		175		120		245	
2	310		270		440		310	
3	340		400		435		385	
4	280		480		175		445	
5	250		405		80		240	
6	275	gem. 330 cal.	240	gem. 345 cal.	415	gem. 310 cal.	370	gem. 315 cal.
7	240		400		290		310	
8	355		245		265		220	
9	455		415		430		305	
10	345		415		430		325	
11	355		370		325		320	
12	385		330		310		390	
13	210		120		405		395	
14	310		260		340		300	
15	365		220		370		380	
16	125	gem. 305 cal.	220	gem. 250 cal.	310	gem. 330 cal.	305	gem. 345 cal.
17	295		390		305		305	
18	330		110		210		310	
19	355		290		405		410	
20	295		195		325		320	
21	160		150		410		325	
22	340		300		205		65	
23	425		260		150		75	
24	210		195		370		155	
25	215		240		390		375	
26	335	gem. 310 cal.	395	gem. 295 cal.	335	gem. 320 cal.	390	gem. 275 cal.
27	420		215		395		350	
28	210		355		300		295	
29	340		420		310		355	
30	375		345		350		305	
31	360		350		330		350	

SEPTEMBER

	1926	gem.	1927	gem.	1928	gem.	1929	gem.
1	340	gem. 215 cal.	355	gem. 235 cal.	315	gem. 345 cal.	355	gem. 290 cal.
2	175		240		410		360	
3	260		195		315		350	
4	280		320		370		260	
5	185		250		355		275	
6	90		250		275		210	
7	90		150		365		280	
8	255		315		355		240	
9	205		180		340		275	
10	250		85		335		300	
11	315	gem. 270 cal.	205	gem. 145 cal.	295	gem. 270 cal.	315	gem. 185 cal.
12	260		205		290		250	
13	240		170		295		185	
14	270		90		275		80	
15	150		60		290		225	
16	310		160		255		160	
17	270		85		300		210	
18	300		180		275		220	
19	310		95		215		120	
20	290		200		230		80	
21	80	gem. 180 cal.	110	gem. 215 cal.	215	gem. 195 cal.	120	gem. 195 cal.
22	230		200		280		185	
23	235		190		270		130	
24	145		220		60		220	
25	220		280		110		250	
26	220		250		240		250	
27	120		245		260		235	
28	150		235		195		220	
29	200		200		110		145	
30	200		220		220		180	

OCTOBER

	1926	1927		1928		1929	
1	180	195	gem. 185 cal.	225	gem. 160 cal.	120	gem. 95 cal.
2	165	65		115		40	
3	155	240		155		55	
4	70	180		240		70	
5		185		200		110	
6		205		120		85	
7		160		100		185	
8		155		155		75	
9		240		130		85	
10		205		135		100	

DIFFERENCES IN VITALITY OF THE LEAVES OF FOUR VARIETIES OF OATS AS CONNECTED WITH THE YIELD

BY

A. E. H. R. BOONSTRA.

(CONTRIBUTION FROM THE INSTITUTE OF PLANTBREEDING).

Differences in vitality of the leaves of four varieties of oats as connected with the yield by A. E. H. R. Boonstra.

(Contribution from the Institute of Plantbreeding).

Introduction and method.

Repeatedly the difference in yield of the varieties of cereals has been connected with tillering, earforming, structure of the stalk, etc., but no attention has been paid so far to the relation between yield and vitality (continuance of function) of the assimitating parts, i. e. first of all the leaves. [1])

As long as the assimilation of a leaf in one day exceeds the respiration and the materials formed are not used for the construction of the leaf itself, generally speaking the yield will increase together with a longer vitality of the leaves. By this there is consequently a possibility that the greater yield of a certain variety as compared with other varieties, is partly due to the quality that the leaves have a longer life. In order to trace the relation between this quality and the yield, the following orientating investigation has been made with four species of oats: ,,Zegehaver" (Svalöf), ,,Gouden Regen" (Svalöf), ,,Zwarte President" (Mesdag) and ,,Evene" (Avena strigosa).

By the side of the three species first mentioned, that are of pure breed and of great value in practice, purposely an unproductive population (,,Evene") has been put to get an idea in which direction plantbreeding has executed its influence. The plants grew under circumstances perfectly equal to practice as regards tillage of the soil, manuring and distance. It must be remarked however that the soil consisted of heavy clay, whereas ,,Zwarte President" and ,,Evene" are mostly not cultivated on this soil.

The four fields, of some square Meters each, were situated close together, so that the circumstances were alike as much as possible. Originally, a second series of four fields had been laid out, but the investigation proved to take so much time that these had to be left out afterwards. Whereas at first it was intended to work with 200 plants of each variety, the number of plants was reduced later on to 100 and finally the ,,Evene" caused by its great number of sidestalks

---

[1]) H. MOLISCH: Die Lebensdauer der Pflanzen. 1929, in his chapter on ,,Blattdauer" does not mention a single investigation regarding cereals. According to him in Hangsging's book: Phyllobiologie, 1903 no mention is made of the vitality of leaves

so many difficulties that only 50 plants of this variety were followed in their development until harvest.

In four different places of each field a row (not the first or second) was taken, 25 plants out of which were chosen on the 26th. of April, in order to serve as objects for observation. In selecting attention was only paid to the stage of development, i. e. only plants, the second leaves of which were already visible, but not yet fully developed, were provided with a numbered label and the first leaf marked by *one* red dot on the top. Later on the second leaf got *two* red dots, the third three; the fourth leaf one black dot etc. In this way every leaf was provided with a mark of its own, by making use of different colours and a different number of dots.

Moreover every sidestalk got a distinctive mark of its own.

Now it is very difficult to decide when a leaf begins to supply assimilates and when it leaves off doing so. In order to have definite criterions, it has been assumed that a leaf begins to produce a surplus on the day when the following leaf — respectively panicle — appears, and that it stops doing so as soon as half of it is yellow. The period between these two dates is considered in this case to be the vitality of the leaf. Of course this renders only approximately the requested value.

According to the ripeness the harvestdates were: „Zwarte President" 27th July, „Gouden Regen" 6th August, „Zege" and „Evene" 7the August. Only those stalks that had produced an ear were harvested. The material harvested was dried in a temperature of 105 degrees C. and then the grains were rubbed out by hand and weighed.

The vitality of the leaves.

See fig. 1 and table 1.

The results can be best discussed on the basis of the curves. On the x-axis the leaves are indicated, numbered successively from below to above and on the y-axis the vitality of the leaves.

The rough course of the curves for the main stalk (Fig. 1) is the same for the four species. The first leaves have a relatively short vitality, which increases considerably from the third leaf onward and decreases after the 7th. or 8th. leaf. This shorter vitality of the top leaves is with regard to the last leaf somewhat deceptive in connection with the notation. Whereas with the bottom leaves the assumption: the leaf is full-grown when the next appears, will not give rise to serious

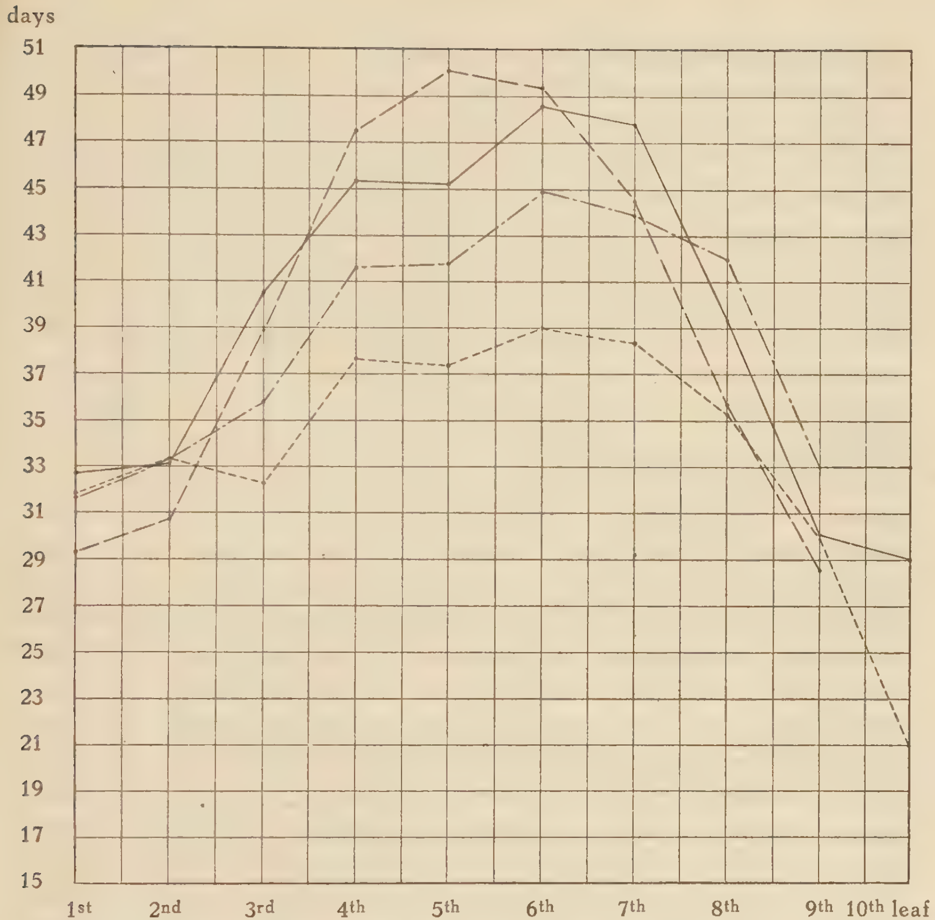


Fig. 1. Vitality of the leaves of the mainstalk.
——————— Zege (73)
—.—.—.— G. R. (75)
— — — — Zw. Pr. (74)
- - - - - - Evene (23)

TABLE 1.

VITALITY OF THE LEAVES OF THE MAINSTALK IN DAYS.

		1st.	2nd.	3rd.	4th.	5th.	6th.	7th.	8th.	9th.	10th. leaf.
Zege.	(73)	32.7	33.1	40.5	45.3	45.2	48.6	47.8	39.3	30.1	29.0
G. R.	(75)	31.7	33.3	35.8	41.6	41.8	44.9	43.9	42.0	33.0	33.0
Zw. Pr.	(74)	29.3	30.7	38.9	47.5	50.1	49.4	44.5	35.7	28.5	—
Evene.	(23)	31.8	33.3	32.3	37.6	37.4	39.0	38.4	35.3	29.9	21.0

mistakes, the panicle is so long in appearing that the last leaf is noted too late as full-grown and therefore too short a vitality is reckoned.

After all it would probably have been better to take an other salient point for the determination of the ,,birth-date", e.q. the appearence of the ligula, but allowing for the fact that the vitality of the last leaf was taken too short, the curves clearly show differences between the various varieties. Furthermore it must be kept in view that naturally not all mainstalks (and this holds good as well for the sidestalks) produce the same number of leaves. The average number of leaves of the mainstalk is with the ,,Evene" 9, with the ,,Gouden Regen" 8.5, with the ,,Zege" 8.4 and with the ,,Zwarte President" 8. (Fig. 7.) But also within the varieties occur great individual differences in this respect, viz. with the ,,Zege" from 7 to 10 leaves, with the ,,Zwarte President" 6—9 leaves, with the ,,Gouden Regen"' 7—10 leaves and witt the ,,Evene" 8—10 leaves. Of course the considerable deviations from the average number of leaves occur but seldom, but yet the consequence is that the average vitality calculated from the last leaves is founded on less data and is consequently less trustworthy. The most distinctly indeed this is shown with the vitality of 10th leaf of the ,,Zege"; with the ,,Zege" only one stalk with 10 leaves occurred namely, and this accounts at the same time for the irregularity in the curve in this place.

But all the same the whole shows with sufficient reliability that as regards vitality of the leaves there are distinct differences between the 4 varieties of oats in this sense that the leaves of the ,,Evene" (Dutch population of Avena Strigosa) live the shortest and next those of the ,,Gouden Regen", whereas the leaves of the ,,Zege" and the ,,Zwarte President" have a longer vitality. The differences between the last two varieties are of a somewhat different nature. The highest vitality is reached by the 5th and 6th leaves of the ,,Zwarte President" but thereupon a fall sets in already, whereas the highest vitality of the ,,Zege" (as well as of the ,,Gouden Regen" and the ,,Evene") only sets in with the 6th and 7th leaves and the entire curve of the ,,Zwarte President" shows a much narrower top than that of the ,,Zege", where the top is broader as a consequence of the fact that there is not so suddenly a considerable difference between the successive leaves as in the case of the ,,Zwarte President".

Generally speaking differences in vitality noticed in the mainstalk are found back in the side-stalks. (Fig. 2, 3, 4. Table 2, 3, 4.)

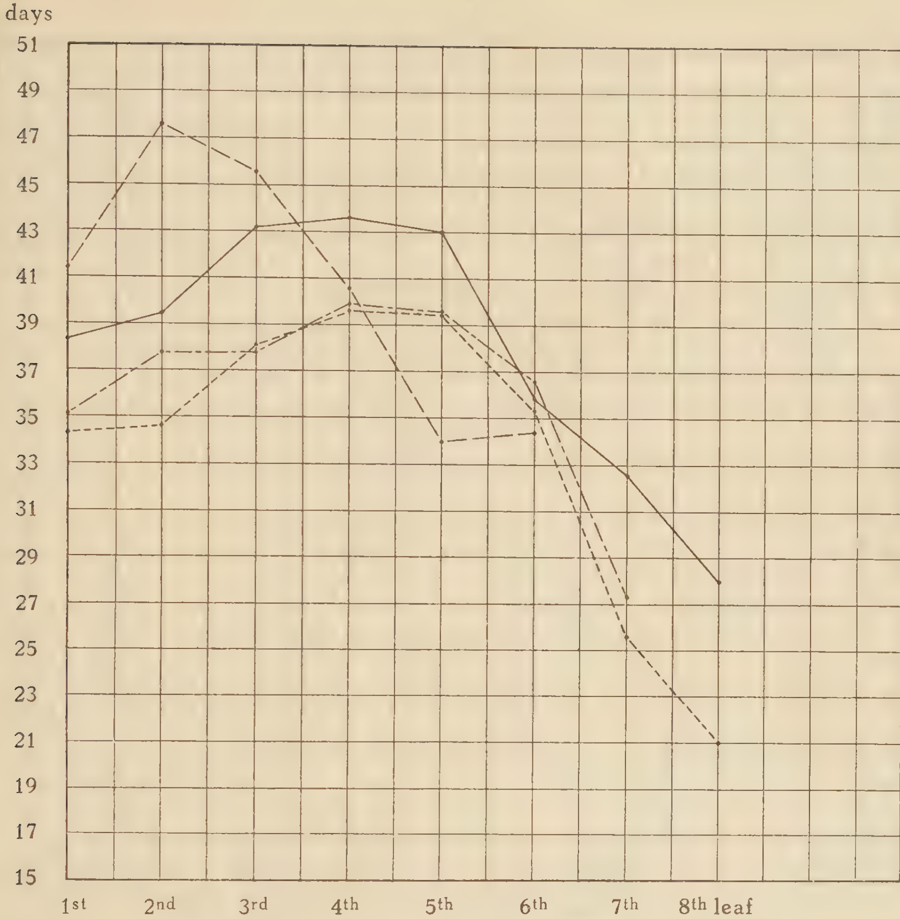


Fig. 2. Vitality of the leaves of the 1st side-stalk.

———————— Zege (29)

— · — · — · — G. R. (20)

— — — — — Zw. Pr. (49)

- - - - - - - - - - Evene (20)

TABLE 2.

VITALITY OF THE LEAVES OF THE FIRST SIDE-STALK IN DAYS.

		1st.	2nd.	3rd.	4th.	5th.	6th.	7th.	8th. leaf.
Zege.	(29)	38.3	39.4	43.1	43.6	43.0	35.8	32.6	28.0
G. R.	(20)	35.1	37.7	37.8	39.9	39.6	36.6	27.3	—
Zw. Pr.	(49)	41.4	47.6	45.6	40.6	34.0	34.4	—	—
Evene.	(20)	34.2	34.6	38.1	39.6	39.5	35.3	25.6	21.0

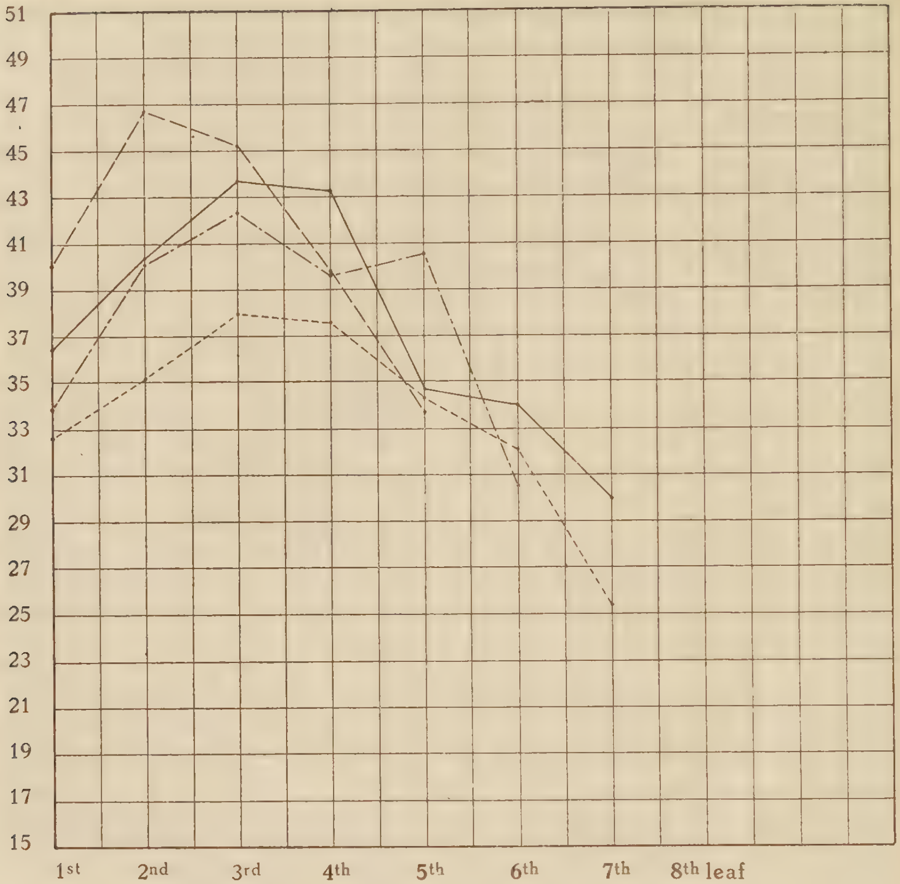


Fig. 3. Vitality of the leaves of the 2nd side-stalk.

—————— Zege (20)

—.—.—.— G. R. (14)

— — — — Zw. Pr. (41)

- - - - - - - - Evene (16)

TABLE 3.

VITALITY OF THE LEAVES OF THE 2ND. SIDE-STALK IN DAYS.

	1st.	2nd.	3rd.	4th.	5th.	6th.	7th. leaf.
Zege. (20)	36.5	40.4	43.7	43.3	34.7	34.0	30.0
G. R. (14)	33.9	40.1	42.3	39.6	40.5	27.5	—
Zw. Pr. (41)	40.1	46.7	45.2	39.8	33.7	—	—
Evene. (16)	32.7	35.1	38.0	37.6	34.3	32.1	25.4

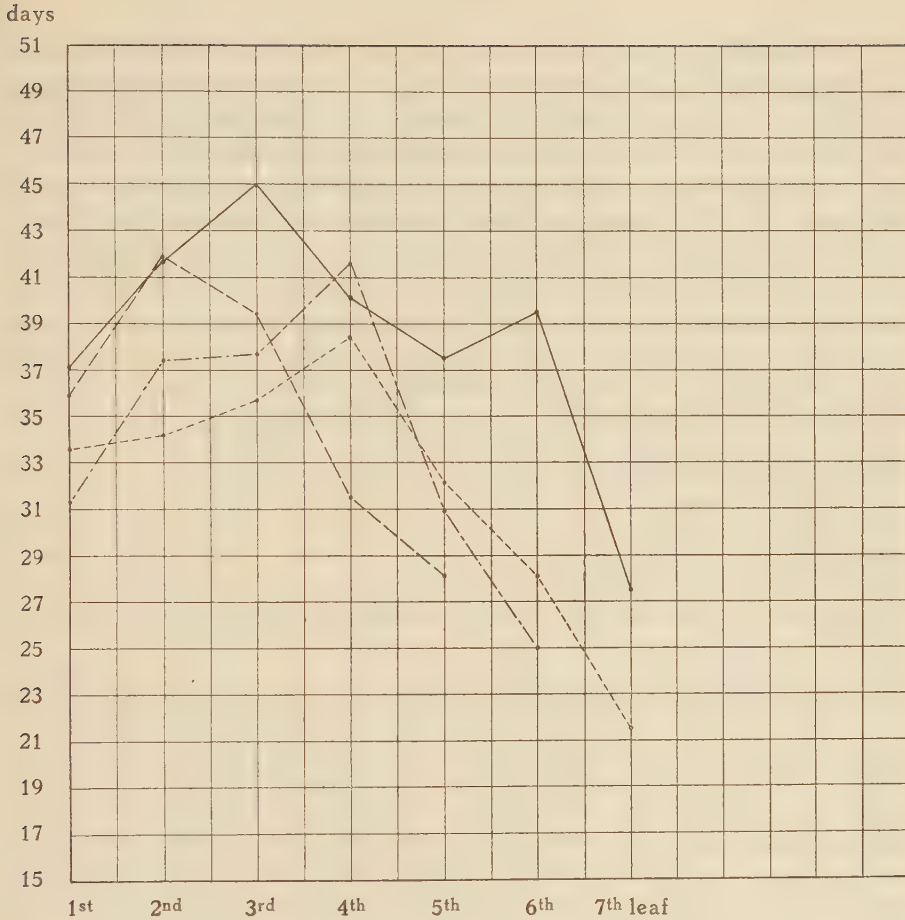


Fig. 4. Vitality of the leaves of the 3th side-stalk.

——————— Zege (9)
—·——·—·— G. R. (7)
— — — — — Zw. Pr. (30)
- - - - - - - - - Evene (11)

TABLE 4.

VITALITY OF THE LEAVES OF THE 3RD. SIDE-STALK IN DAYS.

	1st.	2nd.	3rd.	4th.	5th.	6th.	7th. leaf.
Zege. (9)	37.1	41.7	45.0	40.1	37.5	39.5	27.5
G. R. (7)	31.3	37.4	37.7	41.6	30.9	25.0	—
Zw. Pr. (30)	35.9	41.8	39.4	31.5	28.2	—	—
Evene. (11)	33.6	34.2	35.7	38.4	32.1	28.1	21.5

The number of side-stalks is not so large as the number of mainstalks. In order to make it easier to judge of the reliability, the number of data on which the average is founded, has everywhere been given between brackets. Moreover so as to permit a judgement of the reliability of the differences observed the calculation of the probable error of the mean (E_M) has been used in calculating the vitality of the leaves.

It is evident that with this calculation separate groups had to be formed of stalks with the same number of leaves. The calculation of the probable error has been applied to mainstalks with 8 leaves and mainstalks with 9 leaves. The number of mainstalks with 6, 7 and 10 leaves was too small for this method and for the same reason a similar division and calculation of the probable error was neither possible for the side-stalks.

TABLE 5.

VITALITY IN DAYS OF THE LEAVES OF MAINSTALKS WITH 9 LEAVES.

	1st.	2nd.	3rd.	4th.	5th.	6th.	7th.	8th.	9th. leaf.
Zege 33 plants.	32.5	31.8	39.5	44.5	45.4	48.3	49.7	45.2	29.7
	± 0.9	± 0.6	± 0.8	± 0.6	± 0.7	± 0.7	± 0.6	± 0.8	± 0.7
G.R. 42 „	30.1	32.8	34.7	41 8	41.1	45.3	46.5	43.8	31.4
	± 0.9	+ 0.5	± 0.6	± 0.5	± 0.7	± 0.6	± 0.4	± 0.6	± 0.5
Zw. Pr. 17 „	24.9	27.2	33.9	46.5	50.2	50.6	48.9	43.1	28.5
	± 1.4	± 0.9	± 0.5	± 0.8	± 1.3	± 0.6	± 0.5	± 0.3	± 0.8
Evene 13 „	32.4	33.4	30.9	37.8	36.7	38.2	39.8	36.5	26.5
	± 1.0	± 1.1	± 0.9	± 0.7	± 1.4	± 1.8	+ 1.4	± 2.0	+ 1.2

Table 5 gives the vitality of the leaves of the mainstalks with 9 leaves and the probable error calculated if $E_M = 0.6745 \sqrt{\frac{\Sigma x^2}{n(n-1)}}$.

The value of E_M remains in general under one day, except with the „Evene" where E_M is greater as a consequence of the smaller number of objects and moreover because it is a population and therefore genetically heterogeneous.

Expressed in percents the probable error is somewhat under 2 %. This error is rather important, but then it is to be expected when we consider that in every series occur one or more leaves that deviate

very considerably from the average, which most probably has to be imputed to:

1. damage of such a leaf caused by wind;
2. damage caused by the repeated handling;
3. the difficulty of determining the final date.

For an example the complete figures concerning the vitality of the 8th leaf of the „Evene" are subjoined. With this leaf we find the greatest value of E_M as appears from the table, viz. $E_M = 2.0$.

Number of the plant . . .	302	303	306	308	310	321	322	323	352	359	360	362	375	
Vitality . . .	41	39	30	33	33	37	9	33	52	46	46	33	43	Mean = 36.5
x	$4\frac{1}{2}$	$2\frac{1}{2}$	$6\frac{1}{2}$	$3\frac{1}{2}$	$3\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	$27\frac{1}{2}$	$3\frac{1}{2}$	$15\frac{1}{2}$	$9\frac{1}{2}$	$9\frac{1}{2}$	$3\frac{1}{2}$	$6\frac{1}{2}$	
x^2	$20\frac{1}{4}$	$6\frac{1}{4}$	$42\frac{1}{4}$	$12\frac{1}{4}$	$12\frac{1}{4}$	$\frac{1}{4}$	$756\frac{1}{4}$	$12\frac{1}{4}$	$240\frac{1}{4}$	$90\frac{1}{4}$	$90\frac{1}{4}$	$12\frac{1}{4}$	$42\frac{1}{4}$	$\Sigma x^2 = 1337.25$

As appears from this calculation the one great deviation of N°. 322 contributes more to Σx^2 than all the others together. But for this plant the E_M would be half as great.

TABLE 6.

VITALITY IN DAYS OF THE LEAVES OF MAINSTALKS WITH 8 LEAVES.

	1st.	2nd.	3rd.	4th.	5th.	6th.	7th.	8th. leaf.
Zege (33)	32.1	34.5	41.1	45.9	46.7	50.6	48.5	32.9
	± 1.0	± 0.7	± 0.6	± 0.7	± 1.0	± 0.5	± 0.6	± 0.6
G. R. (14)	34.6	34.6	36.2	40.1	40.5	43.2	43.5	31.9
	± 1.6	± 1.0	± 1.4	± 0.7	± 1.5	± 0.8	± 1.1	± 0.6
Zw. Pr. (47)	29.9	30.6	38.7	48.0	50.3	50.9	45.0	33.0
	± 0.7	± 0.5	± 0.7	± 0.6	± 0.8	± 0.5	± 0.6	± 0.6
Evene (4)	33.0	36.8	39.5	36.5	41.8	44.0	40.0	25.8
	± 1.8	± 1.0	± 1.8	± 3.0	± 4.0	± 3.6	± 2.7	± 2.5

Table 6 gives the vitality of the leaves of the mainstalks with 8 leaves. Here also E_M has about the value of 1.0, except with the „Evene", of which only 4 mainstalks with 8 leaves were available, the average of which is consequently little reliable. This appears for that matter from the fig. 5 and 6, which have been added to show that the general appearance of the curve has undergone no change by dividing the objects of each variety into groups according to the number of leaves and by comparing those groups of the different varieties. It is

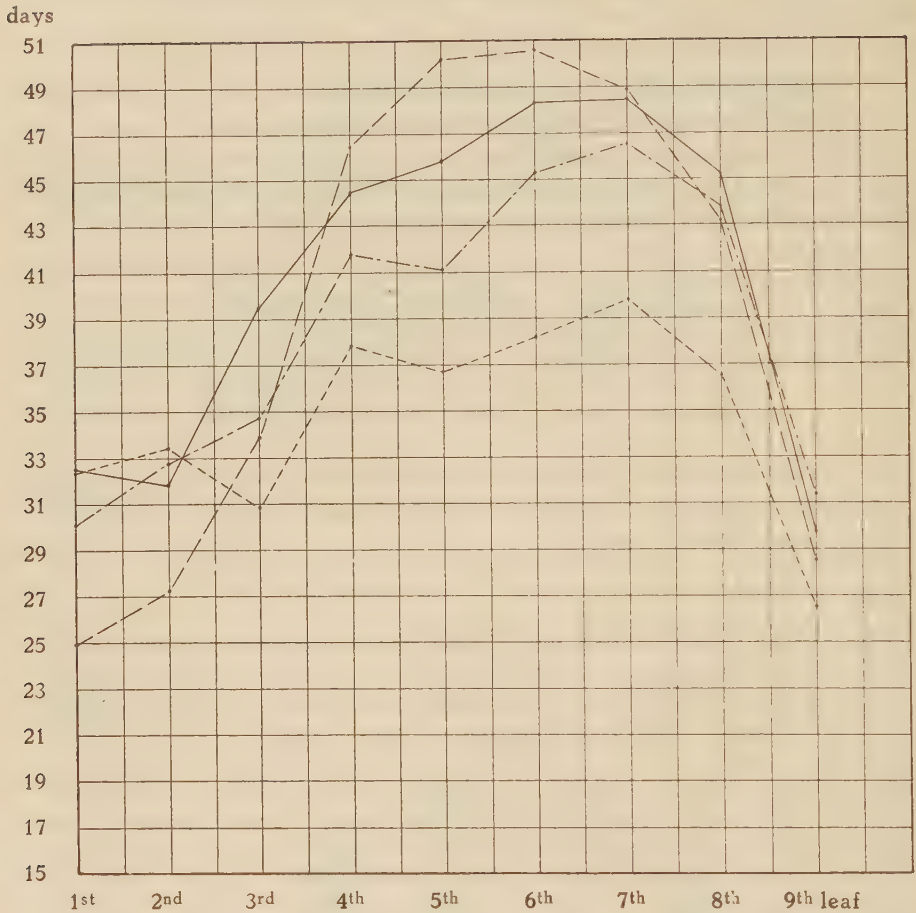


Fig. 5. Vitality of the leaves of the mainstalks with 9 leaves.

——————— Zege (33)
—·—·—·— G. R. (42)
— — — — Zw. Pr. (17)
- - - - - - Evene (13)

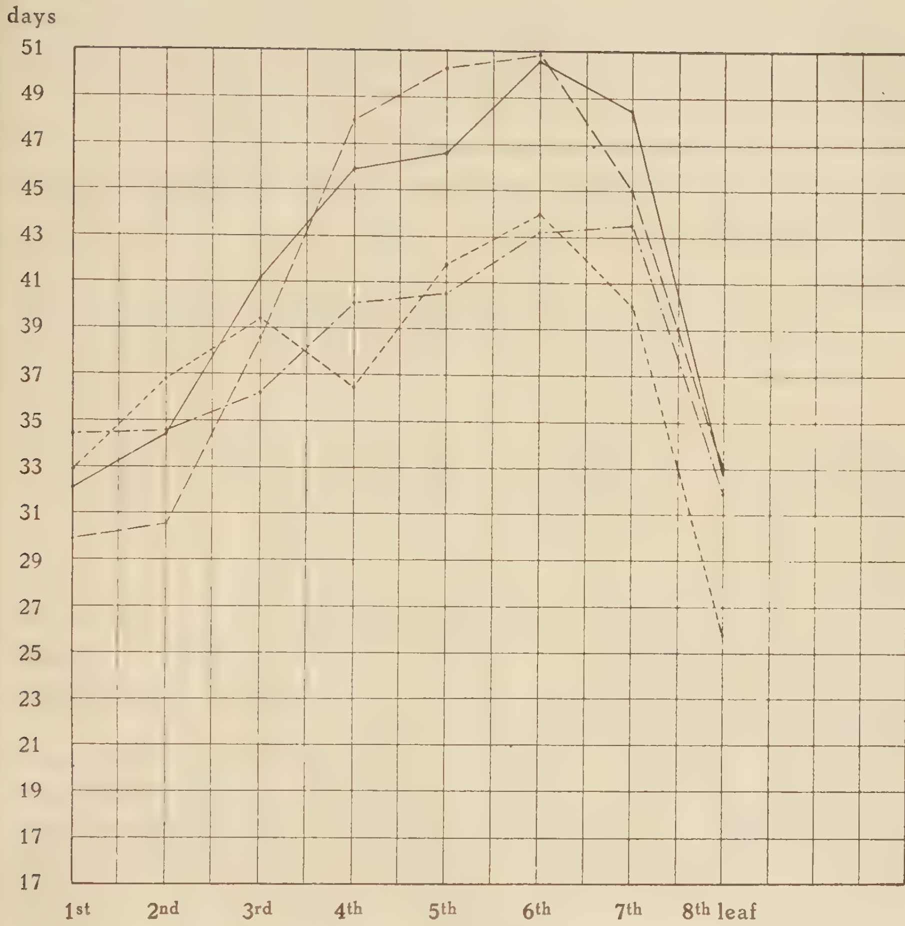


Fig. 6. Vitality of the leaves of the mainstalks with 8 leaves.

——————— Zege (33)
—·—·—·— G. R. (14)
— — — — Zw. Pr. (47)
- - - - - - Evene (4)

evident that the comparison of stalks with an equal number of leaves is more exact but as mentioned before this could not be carried through everywhere as the number of individuals in each group would become too small.

The vitality of the leaves as connected with the yield.

The following table shows the average yield of mainstalk and first three side-stalks.

TABLE 7.

YIELD OF MAINSTALK AND FIRST THREE SIDE-STALKS.

	Mainstalk.	1st.	2nd.	3rd. side-stalk.
Zege	2.304 Gr.	1.501 Gr.	1.580 Gr.	1.293 Gr.
G.R.	1.834 „	1.119 „	1.372 „	0.997 „
Zw. Pr.	1.981 „	1.298 „	1.387 „	0.933 „
Evene	0.898 „	0.733 „	0.611 „	0.615 „

As is proved hereby, for the mainstalk as well as for each of the side-stalks the yield decreases in the succession „Zege", „Zwarte President", „Gouden Regen" and „Evene". This is consequently entirely parallel to the vitality of the leaves.

The only difference is that as regards yield it is proved more clearly that the „Zege" is leading and the „Zwarte President" approaches more the „Gouden Regen". We will probably have to look for an explanation of this in the fact that with the „Zwarte President" the maximal vitality of the leaves lies more to the left in the curves (especially clear with the side-stalks) whereas with the „Gouden Regen" the top of the curve has been shifted more to the right. The upshot is consequently that the top leaves of the „Zwarte President" which are likely to have a greater influence on the yield of grains (proved for wheat) [1]) relatively speaking do not live so long as those of the „Gouden Regen". The most correct comparison we can again make in the curves that concern the mainstalks with the same number of leaves. Of the stalks with 9 leaves, with the „Zwarte President" the fourth leaf from the panicle reaches the greatest vitality, with the „Gouden Regen" the second leaf. Of the stalks with 8 leaves it is with

[1]) A. E. H. R. BOONSTRA: Invloed van de verschillende assimileerende deelen op de korrelproductie bij Wilhelminatarwe. Med. Landbouwhoogeschool, Deel 33 Verh. 3.

the „Zwarte President" the third leaf and with the „Gouden Regen" the second.

From the unequal values the different leaves have for the seedyield it follows, that we cannot take the sum of the vitalities of all the leaves of a certain stalk in order to determine the correlation thereof with the yield of grains. This is indeed possible of each seperate leaf, but we can see beforehand that the correlation of the vitality of one leaf with the seedyield will not be very considerable as the latter may be governed by many other influences. In a few cases however the trouble has been taken to determine this correlation to get an idea of its size. See table 8.

TABLE 8.

CORRELATION OF THE VITALITY OF THE RESPECTIVE LEAVES WITH THE SEEDYIELD.

	Zege (33)	G. R. (42)	Zw. Pr. (47)
9th. leaf . . .	+ 0.41	+ 0.07	—
8th. „ . . .	+ 0.18	+ 0.13	+ 0.09
7th. „ . . .	+ 0.32	+ 0.09	— 0.04
6th. „ . . .	+ 0.07	— 0.12	+ 0.11
5th. „ . . .	+ 0.31	+ 0.19	+ 0.05
4th. „ . . .	+ 0.26	+ 0.08	+ 0.04
3rd. „ . . .	+ 0.05	— 0.03	+ 0.05
2nd. „ . . .	+ 0.21	+ 0.16	+ 0.28

From the table it can be deduced with probability that there exists a weak positive correlation. Of course this cannot be proved with certainty seeing that we have to go by so few data. The probable error of r. amounts to about 0.100.

In this relation the three cases in which r. is negative can be accounted for just as the considerable fluctuations. The table for the matter of that has no other value than an indicative one.

From the above I think we are allowed to deduce that the vitality of the leaves is an important factor and deserves more attention than has been paid to it so far; this holds good especially for plant-breeding. The great difficulty in taking notice of such physiological qualities is however the great quantity of time that is taken up.

The data collected during the investigation provide an opportunity of pointing out at the same time some other qualities, in which the 4 varieties of oats differ more or less. As these data do not directly bear upon the purpose proper of the investigation they have been united without an ample explanation in an appendix.

APPENDIX.

TABLE 9.

	Zege (83 pl).	G.R. (88)	Zw. Pr. (88)	Evene (37)
Average number of stalks p. plant	3.64	3.31	4.16	7.49
„ „ „ panicles „	1.72	1.46	2.80	3.14
Number of stalks that produce a panicle	47 %	44 %	67 %	42 %
Average yield per plant . . .	3.298 Gr.	2.351 G.	4.118 G.	1.953 G.
„ „ „ panicle . .	1.914 G.	1.614 G.	1.373 G.	0.623 G.

Striking is the great number of side-stalks that the Evene produces and the small percent of these side-stalks that comes to panicle-forming. It is just the „Zwarte President" that excels in these two qualities and which therefore comes first as regards the yield per plant, though in practice (and then mostly not grown on heavy clay, as has been done in this case) it comes only in the third place. Furthermore the small yield per panicle of the „Evene" is remarkable.

TABLE 10.

Average yield of:	mainstalk.	1st.	2nd.	3rd.	4th.	5th. side-stalk.
Zege	2.304 Gr.	1.501 Gr.	1.580 Gr.	1.293 Gr.	1.402 Gr.	1.045 Gr.
G. R.	1.834 „	1.119 „	1.372 „	0.997 „		
Zw. Pr.	1.981 „	1.298 „	1.387 „	0.933 „	0.964 „	0.765 „
Evene	0.890 „	0.733 „	0.611 „	0.615 „	0.434 „	0.294 „

The side-stalks have been numbered according to the succession in which they appear. The side-stalks of a higher order yield less in general, which is in accordance with the observation of Schribaux, [1]) on which is founded the latter's thesis that we must breed cereals with small tillering-power.

About this thesis in itself the data given state nothing of course.

TABLE 11.

AVERAGE YIELD PER PANICLE OF PLANTS WITH DIFFERENT NUMBER OF PANICLES.

Plants with.	1	2	3	4	5 panicles.
Zege	1.708 Gr.	1.854 Gr.	2.078 Gr.	2.479 Gr.	
G. R.	1.462 „	1.735 „	1.638 „		
Zw. Pr. . . .	1.176 „	1.084 „	1.450 „	1.579 „	1.938 Gr.
Evene. . . .	0.650 „	0.582 „	0.580 „	0.468 „	0.549 „

[1]) i.a. Recherches expérimentales sur le tallage des céréales. Paris 1900.

Except for the „Evene" it appears from this table that the yield per panicle increases as the plant produces more panicles. On the strength of this phenomenon Rörig [1]) impugns Schribaux' thesis. It is evident as here the figures have reference to the same plants that they are two entirely different phenomenons and discordance is out of the question.

Fig. 7 gives: 1. average leaf development (number of leaves) of the mainplant as a function of the time.
2. average tillering per plant as a function of the time.
3. panicle development as a function of the time.

As regards leaf-development of the mainstalk the differences are not very considerable. The „Zwarte President" is an early-ripe variety and therefore comes first where leaf-development is concerned.

The tillering continues for a very long time with the „Evene" and (as appeared already from table 9) reaches a great height.

With the panicle development we see very clearly that the „Zwarte President" is an early-ripe variety and moreover that the „Evene" forms new panicles until the end of its career in which panicles naturally only few grains have been produced at harvesttime.

TABLE 12.

RELATION BETWEEN YIELD AND NUMBER OF LEAVES WITH THE MAIN STALK.

mainstalk with:	10	9	8	7	6 leaves
Zege	2.460 Gr. (1)	2.744 Gr. (33)	2.187 Gr. (33)	0.103 Gr. (5)	—
G. R.	2.086 „ (5)	2.190 „ (42)	1.379 „ (14)	0.876 „ (11)	—
Zw. Pr. . . .	—	2.185 „ (17)	2.158 „ (47)	0.901 „ (7)	0.060 Gr. (6)
Evene. . . .	0.666 „ (6)	0.782 „ (11)	0.793 „ (4)	—	—

From fig. 7 it has appeared already in connection with the yield that it is certainly not right that varieties with a great number of leaves have a greater yield than varieties with a smaller number of leaves. The above table shows that the same holds good also within the variety, although here we may assume that the surface of the foliage increases in proportion to the number of leaves.

Fig. 8 gives the development of the green parts in course of time. It is a pity that it was not possible in the busy time to measure the

[1]) Ill. Landw. Zeit **22** 1902.

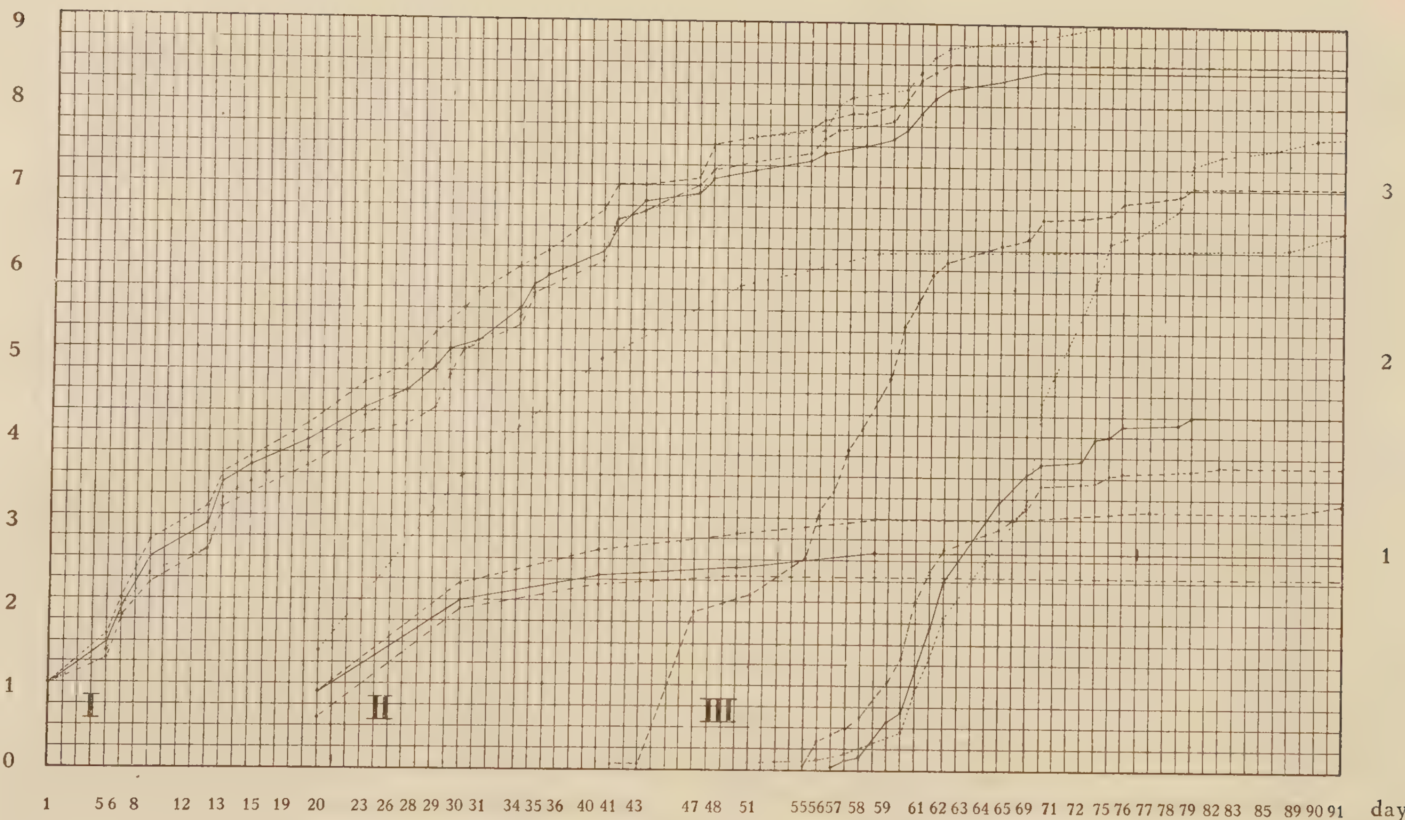


Fig. 7.

———————	Zege haver.
-.-.-.-.-.-	Gouden regen.
- - - - - - -	Zwarte President.
··············	Evene.

I. Number of leaves of the main-stalk as a function of the time.
II. Tillering per plant as a function of the time.
III. Number of panicles per plant as a function of the time.

X-axis: Days of observation from the beginning of the experiment.
Y-axis; left: Number of leaves, respectively stalks; right: Number of panicles.

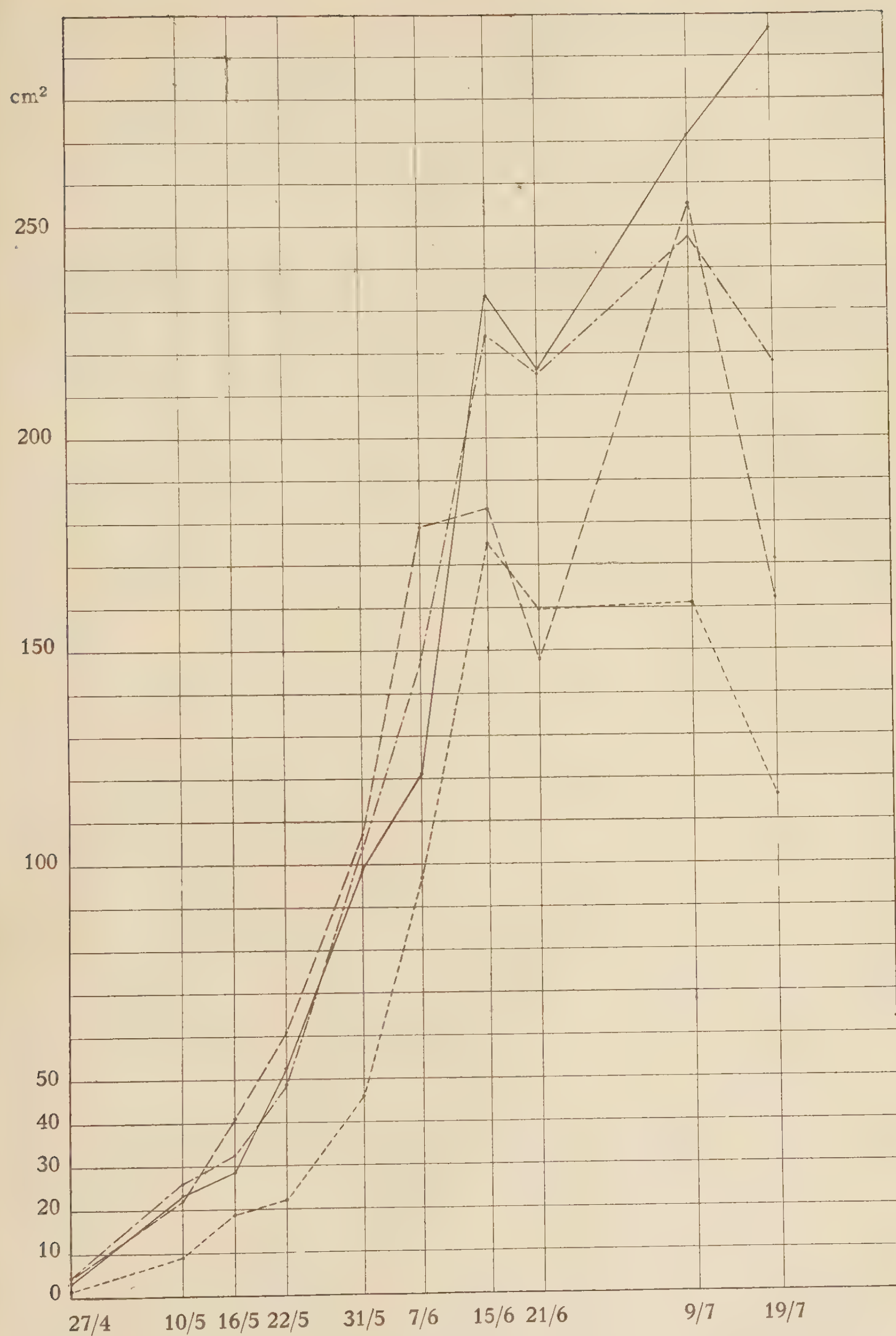


Fig. 8. Green surface of the plant as a function of the time.

- · ———— Zege

—·—·—·— G.R.

— — — — Zw. Pr.

- - - - - - - - Evene

green surface of leaves and stalk of a great number of plants. The figures over the curves indicate on how many plants the average is founded. In general the differences of assimilating surface with the 3 good varieties are inconsiderable. The „Evene" deviates again strongly in an unfavourable sense.

From the staff of our institute Miss HEINSIUS took an important part in controlling the leaf-development, whereas Miss POSTUMA made the translation into English.

VERSCHILLEN IN LEVENSDUUR VAN DE BLADEREN BIJ 4 HAVERRASSEN IN VERBAND MET DE OPBRENGST.

De varieteiten van onze landbouwgewassen geven in het algemeen een verschillende opbrengst. Eén bepaalde oorzaak is daarvoor niet aan te wijzen. Meermalen is getracht een verband op te sporen tusschen de opbrengst en uitstoeling, aarlengte, bouw van de halm, bladoppervlak e. a. Op de levensduur van de bladeren is, voor zoover ik weet, nog nooit gelet. Toch zal, zoolang voor een blad de assimilatie de ademhaling per 24 uur overtreft en de gevormde stoffen niet gebruikt worden voor de opbouw van het blad zelf, de opbrengst in het algemeen stijgen met een langere levensduur van het blad. Nu is het niet mogelijk om op eenvoudige wijze te bepalen, wanneer een blad begint met het afleveren van assimilaten en wanneer het daarmee ophoudt.

Eenvoudigheidshalve heb ik aangenomen, dat een blad hiermee begint, op die dag, dat het volgende blad, resp. pluim te voorschijn komt en dat het daarmee ophoudt, zoodra het voor de helft geel is. Het tijdsverloop tusschen deze twee data noem ik dan in dit onderzoek de levensduur van het blad. Natuurlijk geeft dit slechts bij benadering de gewenschte waarde weer.

Het onderzoek werd uitgevoerd met Zegehaver, Gouden Regen, Zwarte President en Evene (Populatie van Avena Strigosa). De planten groeiden onder omstandigheden geheel gelijk aan de practijk wat grondbewerking, bemesting en standruimte betreft. De 4 veldjes, elk van eenige vierkante Meters, lagen vlak naast elkaar. Op 26 April werden in elk veldje 100 planten uitgezocht, waarvan het tweede blad reeds te zien was, maar nog niet geheel ontwikkeld. Oorspronkelijk was het de bedoeling om de levensduur na te gaan bij 200 planten van elk ras, maar het onderzoek bleek te bewerkelijk om dit uit te voeren. Zelfs moest bij de Evene, die zeer sterk uitstoelt, het aantal nog beperkt worden tot 50.

Het eerste blad werd gemerkt met een roode stip aan de top van het blad. Later kreeg het tweede blad 2 roode stippen, het derde blad 3, het vierde blad een zwarte stip, en zoo werd door gebruikmaking van verschillende kleuren en een verschillend aantal stippen

elk blad van een eigen merk voorzien. Bovendien kreeg elke zijhalm een eigen kenteeken.

In verband met de rijpheid waren de oogstdata: Zwarte President 27 Juli, Gouden Regen 6 Augustus, Zege en Evene 7 Augustus. Alleen halmen die een pluim gevormd hadden werden geoogst. Het geoogste materiaal werd gedroogd bij 105°, het zaad met de hand uitgewreven en na eenige dagen aan de lucht blootgesteld te zijn geweest, gewogen.

De resultaten vallen het best te bespreken aan de hand van de curven. Op de x-as is het blad aangegeven, genummerd in de volgorde van onder naar boven en op de y-as de levensduur van de bladeren in dagen. De korte levensduur van het laatste blad is eenigszins misleidend in verband met de notatie. Terwijl bij de overige bladeren de regel: het blad is volwassen als het daarop volgende te voorschijn komt, niet tot groote fouten aanleiding zal geven, laat de pluim zoo lang op zich wachten, dat het laatste blad te laat als volwassen genoteerd wordt en daarvoor dus een te korte levensduur berekend wordt.

Uit fig. 1 blijkt, dat de bladeren bij de Evene het kortst leven en daarna bij de Gouden Regen, terwijl de Zege en de Zwarte President een langere bladlevensduur bezitten. De verschillen tusschen deze laatste twee rassen zijn van eenigszins andere aard. De langste levensduur bereiken bij de Zw. Pr. het 5e en 6e blad, terwijl deze bij de Zege pas bij het 6e en 7e blad bereikt wordt.

Fig. 2, 3 en 4 laten zien, dat de voor de hoofdhalm geconstateerde verschillen ook bestaan bij de zijhalmen. Omdat het aantal zijhalmen niet zoo groot is als het aantal hoofdhalmen, is overal tusschen haakjes aangegeven op hoeveel gegevens het gemiddelde berust.

Het aantal bladeren van de hoofdhalm is bij de Evene 8—10 (gem. 9,0), bij de G. R. 7—10 (gem. 8,5), bij de Zege 7—10 (gem. 8,4), bij de Zw. Pr. 6—9 (gem. 8).

Om een zuiverder vergelijking mogelijk te maken heb ik de hoofdhalmen met 9 bladeren onderling vergeleken en eveneens die met 8 bladeren (resp. fig. 5 en 6). Bovendien heb ik op deze groepen de foutenberekening toegepast (tabel 5 en 6). De waarschijnlijke fout is berekend als $E_M = 0.6745 \sqrt{\frac{\Sigma x^2}{n\,(n-1)}}$.

De aantallen hoofdhalmen met 6, 7 en 10 bladeren waren te gering om een eenigszins betrouwbaar gemiddelde te krijgen en om dezelfde reden was een splitsing in groepen met gelijk aantal bladeren bij de zijhalmen niet mogelijk.

Tabel 7 geeft de gemiddelde opbrengst van hoofd- en eerste drie zijhalmen. Hieruit blijkt, dat de opbrengst afneemt in de volgorde Zege, Zw. Pr., G. R., Evene, of dus in dezelfde volgorde als de bladlevensduur.

Uit de ongelijke waarde, die de verschillende bladeren hebben voor de zaadopbrengst volgt, dat we niet de som kunnen nemen van de levensduur van alle bladeren van een bepaalde halm om de correlatie hiervan met de korrelopbrengst te bepalen. Wel gaat dit van elk blad apart, maar het is te voorzien, dat de correlatie van de levensduur van één blad met de zaadopbrengst niet erg groot zal zijn, omdat die door zeer veel andere invloeden overheerscht kan worden. Voor een paar gevallen is echter de moeite genomen deze correlatie te bepalen om een idee te krijgen van haar grootte. Daarvoor is bepaald de correlatie van de levensduur van de bladeren van de hoofdhalm (bij Zege en G. R. met 9 bladeren, bij Zw. Pr. met 8 bladeren) met de zaadopbrengst. Zie tabel 8.

Deze tabel maakt het bestaan van een zwakke positieve correlatie waarschijnlijk. Het aantal gegevens waarop de correlatietabel berust is veel te klein om dit met zekerheid aan te toonen.

Uit het bovenstaande meen ik te mogen afleiden, dat de levensduur der bladeren een belangrijke factor is en meer aandacht verdient dan er tot dusver aan gewijd is. Vooral geldt dit voor het kweeken van nieuwe rassen.

In een aanhangsel zijn nog eenige andere eigenschappen van de 4 haverrassen vergeleken.

9 Aug. 1929.

AARDAPPELZIEKTEN VAN HET „STIPPELSTREEP"- EN „TOPNECROSE"-TYPE EN HET VRAAGSTUK DER LATENTIE EN PHYSIOLOGISCHE SPECIALISATIE

(POTATO DISEASES OF THE STREAK- EN NETNECROSIS-TYPE AND THE PROBLEM OF „CARRIERS" AND PHYSIOLOGICAL SPECIALISATION)

DOOR

H. M. QUANJER EN J. G. OORTWIJN BOTJES.

INHOUD.

INLEIDING.

Ziekten van het necrotische type moeten wel even oud zijn als de aardappelcultuur zelve. ATANASOFF (1 en 2), die de stippelstreepziekte uitvoerig beschreef (1923), heeft ook de oude literatuur bestudeerd (1923) en is geneigd vrijwel alle gevallen van de vroegere „krulziekte" tot stippelstreepziekte te herleiden. Hij heeft hierin ten deele gelijk, maar zal de waarschijnlijkheid niet kunnen betwisten, dat andere gevallen, die in de 18de en 19de eeuw onvolledig beschreven zijn, tot bladrol, mozaiek, krinkel of andere ziekten gebracht moeten worden. Hoe dit zij, aan de beschrijving van ATANASOFF ligt o. a. materiaal ten grondslag, dat door QUANJER op zijn proefvelden in 1921 werd gekweekt uit in 1920 in de praktijk verzameld materiaal. In laatstgenoemd jaar was niet alleen ziek materiaal van Paul Kruger in de Veenkoloniën verzameld, maar was stippelstreep ook voor den dag gekomen op Paul Kruger onderstammen, waarop QUANJER toppen van Zeeuwsche Blauwe had geënt. Toen een soortgelijke ziekte omstreeks denzelfden tijd groote schade bleek aan te richten in de Eerstelingen in Noord-Holland werd hare studie, in 1921, aan ATANASOFF toevertrouwd. Deze beschreef haar, toonde aan, dat de „oogziekte" der knollen een harer symptomen is en onderscheidde het primaire stadium met de typische hoekige in de bladnerven uitloopende vlekken en de strepen op bladstelen en stengels van het secundaire stadium met de kort blijvende stengels en de kroeze, van onder naar boven afstervende bladeren. Hij toonde verder aan, dat de ziekte besmettelijk is en door bladluizen kan worden overgebracht in welk opzicht zij met vele andere virusziekten overeenkomt.

De overtuiging dat hetgeen men oppervlakkig voor stippelstreep houdt wel eens een complex van twee ziekten kon zijn, drong zich aan QUANJER op bij een reis in Frankrijk in 1920. Daar zag hij in bij ons niet bekende soorten necrotische plekken in de middelste en hoogere bladeren. Deze vlekken zetten zich voort in de nerven precies als bij stippelstreep, maar de ziekte verschilde daarvan doordat de toppen der planten er zoo sterk door aangetast waren, dat zij geheel verdroogden. „Dans plusieurs localités de l'Aveyron a été observé une maladie qui consiste en une dessiccation des extrémités des tiges"

(QUANJER et FOEX [23]). Het karakteristieke ziektebeeld werd onmiddellijk weer herkend toen het later optrad in verschillende aardappelsoorten te Wageningen, die met Green Mountain en in soorten te Oostwold, die met Eersteling geënt waren.

In de laatste jaren zijn namelijk door den eersten schrijver te Wageningen, zoowel als door den tweeden te Oostwold waarnemingen verricht over de ziekten, die optreden wanneer men oogenschijnlijk gezonde aardappelsoorten op andere soorten overent. De eerste schrijver heeft bovendien de vraag trachten te beantwoorden met welke der in Amerika beschreven ziekten, die, welke hier een rol spelen, identiek zijn. [1]) Onafhankelijk van elkaar vonden zij, dat onder hetgeen bij oppervlakkige waarneming voor stippelstreep doorgaat, verschillende ziekten moeten schuilen. Een ervan, door DR. DORST in Eersteling ontdekt, wordt hier als „stippelziekte" beschreven. Een andere, bij onderlinge afspraak topnecrose genoemd, komt tot nu toe in ons land niet openlijk voor den dag; zij leeft verborgen in sommige stammen van Eersteling, Monocraat, Roode Star en Green Mountain, maar in het buitenland was zij, zooals boven opgemerkt, door den eersten schrijver reeds eerder waargenomen.

Aangegeven zal worden welke proeven en waarnemingen te Oostwold en welke te Wageningen plaats hadden. Daar de beide schrijvers onafhankelijk van elkaar werkten, ontdekten zij eerst in 1929 niet alleen, dat zij in het algemeen tot dezelfde resultaten kwamen, maar dat deze resultaten, wat de details betreft, elkaar aanvulden. Op deze wijze wordt een wijder perspectief geopend dan door publicatie van het onderzoek van elk hunner afzonderlijk het geval zou zijn.

METHODEN.

Oorspronkelijk werd te Wageningen gebruik gemaakt van een methode van enting, zooals die in den tuinbouw gebruikelijk is. Toppen van zieke stengels werden, wigvormig toegesneden, vastgehecht in gespleten stengels eener gezonde onderstam. Ook werden op deze wijze aardappelziekten op andere Solanaceeën overgebracht (QUANJER, 24). Later werden helften van zieke en even groote gezonde knollen met de versche snijvlakte op elkaar gebonden. Zoo werd bewezen, dat de mozaiekziekte van de aardappel besmettelijk is.

THUNG (30) heeft door toepassing van deze methode de snelheid

---

[1]) Er heeft zich voor dit vergelijkingswerk een comité gevormd op het vierde botanisch congres te Ithaca, N.Y., bestaande uit Prof. Dr. O. APPEL (Duitschland), Dr. E. GRAM (Denemarken), Dr. P. A. MURPHY (Ierland), Prof. Dr. E. PANTANELLI (Italië) en Prof. Dr. H. M. QUANJER (Nederland).

van verspreiding der verschillende virusziekten in knollen bestudeerd en bewezen, dat besmetting door aanraking plaats vindt en dat er geen vergroeiing voor noodig is.

Tegenwoordig, evenals reeds vroeger te Oostwold, worden volgens de methode der „core grafting" van MURPHY en MC KAY (20) uit de knollen, die als infectiebron dienen, cylindrische stukken met een kurkboor genomen en gebracht in iets nauwere cylindrische gaten, geboord in knollen der te besmetten soort. De zieke knol, waaruit een cylindrisch stuk is weggenomen, dient voor contrôle op de ziekte en voor contrôle op gezondheid kan men het uitgeboorde stuk der gezonde knol gebruiken. De noodige voorzichtigheid dient te worden betracht door de kurkboor na elke operatie te ontsmetten en door blootgelegd vleesch met paraffine af te dekken.

Wel is waar hebben SCHULTZ en FOLSOM (26) aangetoond, dat sommige aardappelvirusziekten ook door de methode der „leaf mutilation" dus door sap kunnen worden overgebracht, ook heeft ELZE (11) belangrijke gegevens verzameld over de methode der overbrenging door bladluizen, maar voor het oplossen van vraagstukken als die, welke hier behandeld worden, is MURPHY's „core grafting" de meest gemakkelijke. Men kan haar in den winter uitvoeren en ziet reeds vroeg in het seizoen de uitkomsten. Alle entingen, beschreven in de volgende hoofdstukken, zijn volgens deze methode verricht. De planten, die uit de geïnfecteerde knollen opgroeien, toonen in den regel direct de sterke of secundaire vorm der overgebrachte ziekte, maar er zijn ook dikwijls planten met geringe, vertraagde reactie bij, waarin wij veelal meer op primaire ziekte gelijkende typen kunnen aantreffen. Ook komt het voor, dat planten een ziekte krijgen, die men niet verwachtte, welke verrassing gewoonlijk een tolerante soort verraadt. En als er in het geheel geen reactie plaats heeft bestaan er drie mogelijkheden:

1. De soort kan onvatbaar zijn.
2. De knollen, waarop geënt is kunnen afkomstig zijn van planten, die „carriers" waren voor de ziekte.
3. De enting kan de ziektevrije planten tot „carriers" hebben gemaakt.

De vraag of vergroeiing plaats heeft tusschen de prop en de knol, waarin zij is vastgedrukt, wordt door OORTWIJN BOTJES op grond zijner ervaring der laatste jaren ontkennend beantwoord. Want als men in den herfst de aardappelen rooit, vindt men heel dikwijls de proppen in volkomen gaven toestand in den grond. De aardappel is dan geheel vergaan maar de proppen zijn intact gebleven. Ze moeten beschut

zijn geweest door een kurklaag, die zich aan de oppervlakte heeft gevormd. Ook hieruit blijkt, dat de ziekten door sap overgaan.

Dat dit inderdaad het geval is blijkt verder nog uit een te Oostwold genomen proef, waarbij proppen Eersteling zijn gebracht in Zeeuwsche Blauwe en na 24 uur zijn vervangen door proppen Zeeuwsche Blauwe. Vier van de dertig geënte Zeeuwsche Blauwe bleken aangetast te zijn en vertoonden hetzelfde mozaiekachtige verschijnsel, dat men altijd ziet in Zeeuwsche Blauwe, die met Eersteling geënt is. Bij een andere proef, waarbij de vervanging na eenige minuten heeft plaats gehad, vertoonden twee planten de ziektesymptomen, die Eersteling in Zeeuwsche Blauwe verwekt.

Daarentegen was een verblijf van de proppen gedurende één uur of gedurende 24 uur niet in staat stippelstreep over te brengen van Zeeuwsche Blauwe in Eersteling of krinkel van zieke Eigenheimer in Thorbecke, welke overgang zonder verwijdering der ziekmakende stukken zeer gemakkelijk plaats heeft.

LITERATUUR.

Over stippelstreep en daarop gelijkende ziekten in Amerika. Naar aanleiding daarvan te Wageningen genomen proeven.

De eerste berichten over en afbeeldingen van „streak", door W. A. ORTON (22), die de ziekte in de soort Factor en door MURPHY, die haar in Green Mountain beschrijft, zijn niet volledig en duidelijk genoeg om ons in staat te stellen na te gaan met welke hier te lande voorkomende ziekte zij overeenkomt. Over de symptomen in de knollen wordt in die berichten met geen enkel woord gerept. Ook kan men op grond daarvan geen oordeel uitspreken over de identiteit van „leaf drop", volgens MURPHY voorkomend in the Scott en een onbekende soort.

Intusschen is in den winter van 1927—'28 materiaal van het Amerikaansche „streak" in de soort Green Mountain en de soort Rose 4 aan QUANJER gestuurd. De beschrijving, welke DR. SCHULTZ [1]) hierbij gaf, luidde: „streaking, brittleness, leaf dropping, extreme dwarfing and early death in second generation. Yellow discolored areas around eyes on tubers". Voor de soort Rose 4 luidde zij: „Similar but milder symptoms than on Green Mountain". De gestuurde knollen van Green Mountain brachten in Wageningen planten voort met typisch stippelstreep. Overenting op Eersteling bewees verder de identiteit met de

---

[1]) Hierbij wordt dank gebracht aan Dr. SCHULTZ en Dr. FERNOW voor de moeite, die zij zich gegeven hebben om het materiaal te verzamelen en te sturen.

in Nederland voorkomende ziekte. De Eersteling kreeg sterk stippelstreep en de kleine knolletjes, die er van geoogst werden, gingen aan necrose te gronde. De in 1928 geoogste knolletjes van Green Mountain hadden necrotische plekken; zij brachten in 1929 spruiten voort, die in Juli reeds aan stippelstreep waren gestorven en waarvan geen knollen meer konden worden geoogst.

In Rose 4 kwam de stippelstreepziekte minder duidelijk voor den dag; zij bleek echter in staat Eersteling even sterk te besmetten als Green Mountain. De Rose 4 zelf bracht knollen voort zonder necrose. In 1929 had zij wederom een minder goed herkenbaar ziektebeeld, dat het midden hield tusschen crinkle en streak en bracht zij necrosevrije knollen voort. Zij schijnt dus „semi-latent" te zijn, zooals bij ons de Bravo.

Het is hier ook de plaats om te wijzen op HUNGERFORDS (15) beschrijving van „russet dwarf" voorkomend in Amerika in Idaho Rural aardappelen. Hij spreekt van een roestkleur der bladeren; de nerven zijn aan de onderzijde doorschijnend en later bruin. De onderste bladeren vallen af en donkere strepen vertoonen zich op de stelen der bladeren en het ondereind der stengels. De ziekte kan jaar op jaar met de knollen worden overgebracht, waaruit blijkt, dat er geen necrose op de knollen voorkomt; van symptomen op de aardappelen wordt ook geen gewag gemaakt. De ziekte schijnt dus dichter bij het krinkel- dan bij het streaktype te staan, zooals dit ook het geval is met „streak" in Rose 4. Materiaal van de door HUNGERFORD beschreven ziekte is hier in Holland niet ontvangen.

Een ziekte, die lijkt op de hier voor het eerst te beschrijven „topnecrose" werd door BARRUS en CHUPP (5) als „yellow dwarf" in de wetenschap geïntroduceerd. De bladeren blijven klein, hebben een gele kleur en de top sterft spoedig af. In het merg en de schors, vooral in de knoopen, ontstaan bruine vlekken. De knollen zijn voor een deel onregelmatig gevormd, dikwijls gebarsten. In het vleesch van de slecht gevormde knollen komen bruine plekken voor aan den rand van het merg en in de schors. Zulke knollen sterven af bij de bewaring en wanneer zwak aangetaste knollen worden uitgepoot verdrogen de spruiten.

Dat echter deze Amerikaansche ziekte niet met topnecrose identiek is leerden zendingen Green Mountain, die aan QUANJER in den winter van 1927—'28 werden toegezonden door DR. SCHULTZ en door DR. FERNOW.[1]) Uit deze knollen groeiden in de jaren 1928 en 1929 planten

[1]) Zie noot blz 8

op, die voor een gedeelte er eenigszins mozaiek- of krinkelachtig uitzagen, voor een deel gezond schenen. Bij geen der planten trad necrose in de knollen op; volgens SCHULTZ toonden de moederplanten „distinct yellowing followed by early dying of upper leaves favored bij higher temperature. Tuber may show lesions". FERNOW schreef bij de zending „yellow dwarf is a disease which, so far as I know appears only in New York and Vermont. We have found it very difficult to obtain plants from the tubers unless one is carefull about the temperature. If the temperature is high plants ordinarily do not come above the ground. On the other hand, if the temperature is kept low the plant may grow but show no symptoms of disease. We find the best method is to grow the plant at about 15 degrees C. until five or six inches high and then place at a temperature of 25 degrees C."

Het wordt hieruit duidelijk, dat „yellow dwarf" niet identiek is met de Nederlandsche topnecrose; trouwens dit kan men ook afleiden uit het feit, dat yellow dwarf in Amerika optreedt in de Green Mountain, waarin topnecrose latent blijft.

Over oogenschijnlijk gezonde planten als virusdragers.

Ofschoon er ook literatuur bestaat over „carriers" of tolerante soorten bij de geslachten Humulus, Beta, Abutilon, Phaseolus, Nicotiana en Physalis, zullen wij ons met latente ziekten hier alleen bezighouden voorzoover zij voorkomen in aardappelsoorten.

a. Gevallen in Amerika.

SCHULTZ (27) entte in het jaar 1924 Green Mountain knollen aangetast door bladrol, mozaiek of spindle tuber en ook gezonde Green Mountain op de Hollandsche en Britsche variëteiten Bravo, Paul Kruger, een variëteit destijds in Holland Duke of York genoemd, maar niet identiek met Eersteling, en Koksiaan (May Queen), die hij alle van QUANJER ontvangen had, op Arran Comrade uit Engeland ontvangen, en op sommige Amerikaansche soorten en zaailingen en constateerde, dat sommige planten van al deze soorten door Green Mountain met een ziekte besmet werden, die zich door necrotische vlekken in het loof kenmerkte, en die een zoo verwoestende werking had, dat de ziekten, die hij er op had willen waarnemen geen gelegenheid hadden zich te uiten. De necrose kwam ook in de okselspruiten van Paul Kruger en Bravo voor den dag, wanneer hij op planten dezer soorten toppen van oogenschijnlijk gezonde Green Mountain entte. De necrose kwam ook voor den dag, wanneer sap van oogenschijnlijk

gezonde Green Mountain in de Hollandsche en Britsche soorten werd ingespoten of gewreven. Bij enting van de Green Mountain, die zich aldus als een „carrier" had doen kennen, op gezonde Rural New Yorker, Irish Cobler, Russett, Spaulding Rose, Early Rose en Bliss Triumph kwam het necrotisch effect niet voor den dag. Wel werd het waargenomen wanneer met sap van deze Amerikaansche soorten bepaalde zaailingen werden besmet. SCHULTZ maakte o. a. uit zijn waarnemingen de gevolgtrekking, dat de necrose, welke latent in Green Mountain voorkomt, een andere ziekte is dan „streak", die zich in Green Mountain als zoodanig openbaart. Wij zullen de ziekte later als topnecrose terugvinden.

JOHNSON (16) heeft aangetoond, dat extract van gezonde aardappelplanten ziektesymptomen kan veroorzaken in tabak en andere Solanaceeën. Het vermogen ziekten te verwekken bleek aanwezig te zijn in al de Amerikaansche handelssoorten, die hij gebruikte.

Twee duidelijk van elkaar te onderscheiden ziekten konden worden overgebracht n.l. een, die fijne bleeke stipjes teweegbrengt en die JOHNSON „mottle disease" noemt en een, die gele, soms concentrisch elkaar omvattende ringetjes op het blad verwekt en aan welke de naam „ringspot disease" werd gegeven. „Mottle disease" werd overgebracht uit de Amerikaansche aardappelsoort Triumph en ook uit bijna alle andere soorten, terwijl „ringspot" werd verkregen uit de soort „Rural New Yorker". Nog een derde ziektebeeld werd waargenomen als sap uit mottle-zieke tabak weer in gezonde tabak werd overgebracht. JOHNSON heeft hieraan den naam „spotnecrose" gegeven.

Dat spotnecrose eerst na overenting wordt waargenomen en dan nog in toenemende mate in opvolgende generaties geeft eenige aanleiding tot het vermoeden, dat de tabaksplanten met spotnecrose van buiten af besmet kunnen zijn. Hieruit zou dan ook zijn te verklaren, dat aardappelen van de soort Triumph ernstig ziek worden door enting met sap van tabak, welke aan spotnecrose lijdt. JOHNSON zelf neemt echter aan, dat de verwekker van spotnecrose in de Triumph aanwezig was; dat ze meer virulent geworden is door overenting in volgende generaties tabak en dan in staat blijkt de Triumph ziek te maken. Hij roert hier een hoogst belangrijk vraagstuk aan, waarop de schrijvers dezer verhandeling nog in hun slotbeschouwingen zullen terugkomen. Sap uit gezonde tabak, uit tabak met „mottle disease" of met „ringspot" veroorzaakt in aardappelen geen afwijkingen.

De meest voor de hand liggende conclusies van JOHNSON's werk,

n.l. dat aardappelplanten dragers zijn van verborgen ziekten, wordt door hem niet als de eenig denkbare verklaring der waargenomen verschijnselen aanvaard. Hij houdt ook rekening met de mogelijkheid, dat het aardappelplasma zelf de oorzaak kan zijn van ziekten in tabak en andere Solanaceeën. Een zijner waarnemingen pleit echter niet voor deze laatste verklaring; het gelukte hem n.l. niet met het sap van uit zaad opgekweekte aardappelplanten ziekte in tabak te verwekken.

Verder kon JOHNSON constateeren, dat een combinatie van een virus uit gezonde aardappelen en het virus van mozaiekzieke tabaksplanten een veel heftiger ziektebeeld veroorzaakt dan ieder van beide afzonderlijk. Hij verkreeg een combinatie-ziekte in de tabak, die ook op andere Solanaceeën kan worden overgebracht en in tomaat een kwaadaardige stippelstreepziekte verwekt.

GARDNER en KENDRICK (12) toonden aan, dat het gewone tomatenmozaiek, hetwelk betrekkelijk weinig schadelijk is, ernstige stippelstreepverschijnselen veroorzaakt als sap van gezonde aardappelen in de mozaiekzieke planten wordt gespoten. Het sap uit gezonde aardappelen alleen veroorzaakt geen ziekten, het is de combinatie met mozaiek, die ernstige verschijnselen doet optreden. G. H. BERKELEY (6) deelde in 1928 mede, dat sap van oogenschijnlijk gezonde aardappelplanten, evenals sap van mozaiekzieke en door streak aangetaste planten van dit gewas „streak" in tomaten verwekte, en BLOOD (8) vermelde in datzelfde jaar dat sap van gezonde aardappelen, te samen met dat van mozaiekzieke tomaten, bij inspuiting in tomaten hetzelfde effect had.

BLODGETT (7), 1927, nam necrotische verschijnselen op Spaansche peper waar na enting met sap uit een groot aantal Amerikaansche aardappelsoorten. Uit Spaansche peper kan de ziekte op andere Solanaceeën worden overgeënt.

b. Gevallen in Europa.

ATANASOFF (4) vestigt in een later stuk (1926) de aandacht op reeds in 1921 door QUANJER genomen entproeven waaruit bleek, dat Eersteling, die met schijnbaar gezonde Zeeuwsche Blauwe geënt was, door stippelstreep tot afsterven gebracht werd. Hij entte verschillende aardappelsoorten met stippelstreepzieke Non plus ultra en noemt op grond daarvan Green Mountain, Institut de Beauvais en Bintje als soorten, op welke zij zich in typische vorm en Immune Ashleaf, May Queen, Bravo en Triumph als soorten op welke zij zich

in verzwakten vorm of als mozaiek of krinkel vertoont. Zeeuwsche Blauwe, Eigenheimer en Roode Star noemt hij als soorten, waarin zich geen symptomen of slechts een uiterst zwakke aanduiding van mozaiek of krinkel openbaart.

ATANASOFF nam ook het eerst waar, dat bij de knolenting tusschen schijnbaar gezonde Zeeuwsche Blauwe en Eersteling niet alleen de tweede soort sterk ziek, maar ook de eerste soort eenigszins ziek wordt. De mozaiek-verschijnselen, die Zeeuwsche Blauwe krijgt door dat contact schrijft hij toe aan het virus van stippelstreep. Hij veronderstelt, dat iets uit de Eersteling op de Zeeuwsche Blauwe overgaat, waardoor de ongevoeligheid van deze soort zou dalen. Misschien zegt hij „zijn de antilichamen of antitoxinen verzwakt door iets dat uit de Eersteling is overgegaan".

MURPHY en MC KAY (20) toonden aan, dat stippelstreep uit oogenschijnlijk gezonde knollen van de soorten Barley Bounty, Irish Chieftain en Arran Chief op andere soorten kan worden overgeënt.

OORTWIJN BOTJES (21) bracht stippelstreep op Eersteling over uit gezonde Zeeuwsche Blauwe, Zeeuwsche Bonte en Bloemgraafjes, terwijl mozaiek op Eigenheimer werd overgebracht uit schijnbaar gezonde Triumph en Thorbecke.

Men mag uit deze gegevens niet afleiden, dat ook alle Europeesche handelssoorten vrijwel geheel uit virusdragende planten bestaan. Tal van overentingen zijn te Wageningen en Oostwold verricht zonder dat er verborgen ziekten bij voor den dag kwamen. HENDERSON SMITH (14) heeft sap van planten der Britsche soorten Majestic, Arran Chief, Arran Victory, Epicure, Sharpe's Express, Great Scot, Abundance en King Edward en de Hollandsche soort Paul Kruger (in Engeland President genoemd) in tomaat gebracht, zonder dat er streak voor den dag kwam en hij vermeldt, dat dit materiaal reeds eerder door Dr. SALAMAN na enting op andere aardappelsoorten vrij van virusziekten was bevonden. Ook KENNETH SMITH (29) werkte met Arran Victory, die bij sapoverbrenging op tabak vrij van virusziekte bleek te zijn.

Deze laatste onderzoeker had sap van mozaiekzieke Arran Victory in Virginia tabak gebracht en kreeg daarop concentrische kringen met een centraal vlekje. Teruggebracht op aardappel bleek het virus een verhoogde virulentie te hebben; een meer opvallend mozaiek kwam nu in korter tijd te voorschijn, dat in de doorgroeiende toppen weer terugliep tot het normale mozaiek, maar bij overenting van aardappel op aardappel den intensieven vorm behield. Dit wordt hier vermeld

omdat ook JOHNSON's proeven wezen op de mogelijkheid van virulentieverhooging.

ZIEKTEN VAN HET STIPPELSTREEPTYPE.

Wij hebben nu na te gaan, welke in de praktijk voorkomende gevallen werkelijk stippelstreep zijn, en zullen dan bemerken, dat er, evenals vele mozaiekziekten, ook vele ziekten zijn van het necrotische type, die zooveel op elkaar gelijken, dat het moeilijk wordt en voor de praktijk hoogst bezwaarlijk ze alle namen te geven. Bovendien zal blijken, dat de stippelstreepziekte in sommige soorten haar ware aard verloochent, maar in alle hevigheid losbreekt zoodra bepaalde gevoelige soorten haar daartoe gelegenheid geven.

Stippelstreep Atanasoff, in de praktijk voorkomend.

Paul Kruger. In deze soort was het, dat QUANJER het eerst met de ziekte kennis maakte en haar op zijn proefvelden overbracht.

De bladvlekken der primair besmette planten zijn iets grooter en minder talrijk dan bij de Eersteling (fig. 1). De strepen op de bladstelen en stengels zien er uit als bij de genoemde vroege soort. Op de knollen vindt men bij het rooien blaren (blisters), eenigszins opgebold zooals blaren, die men op de handen krijgt bij ruw werk of het aanraken van te heete voorwerpen. Soms omgeven zij de oogen en sterft het oog af („oogziekte", „blindness"), soms vindt men ze op plaatsen waar geen oogen zijn, soms omgeven zij de plaats waar de knol aan de stoloon was vastgehecht. Later zinken zij in, eerst in het midden, dan aan den omtrek, en het bruingeworden weefsel barst dan wel eens. In bij het oogsten nog gaaf schijnende knollen kunnen de blaren ook verschijnen; in de op dat tijdstip zieke knollen nemen zij in omvang toe, waarbij men dan om het donkere centrale deel een lichtere eenigszins opgebolde ring ziet. In de onderste drie knollen van figuur 13 zijn opeenvolgende stadia in de ontwikkeling afgebeeld. De bruinkleuring der zieke plekken gaat slechts weinig in de diepte zooals fig. 14, doorsneden voorstellende van de daarnaast afgebeelde knollen, doet zien.

De secundair zieke planten brengen kleinere knollen voort dan de primair zieke, maar er zijn er altijd nog wel eenige bij, die zieke planten geven van welke men nieuwe knollen kan oogsten.

Eersteling. Voor beschrijving en afbeeldingen kan verwezen worden naar Mededeeling No. 6 van den Plantenziektenkundigen

Dienst; de symptomen in de knollen zijn daar wel wat te onvolledig behandeld; zij wijken evenwel niet af van wat boven voor Paul Kruger is aangegeven (knol 4 van fig. 13 en 14). Bij het secundair zieke stadium krijgt men echter zulke kleine zieke knollen, dat deze in de bewaarplaats geheel verdrogen en geen planten meer voortbrengen.

Volgens ATANASOFF blijft het ook bij de knollen der primair zieke planten niet bij een oppervlakkige necrose en zijn de necrotische plekken in het vleesch ten slotte zoo talrijk dat de knol afsterft.

B r a v o. In de Bravo werd in de praktijk het eerst in de Betuwe, in 1915, later te Wageningen en Roodeschool en ten slotte op zeer veel plaatsen in ons land een ziekte gevonden, die voor krinkel gehouden werd (fig. 3, zie ook Pl. III, fig. 12 vierde druk No. 6 van de Verslagen en Mededeelingen van den Plantenziektenkundigen Dienst). De punten der bladeren zijn naar beneden gebogen, de randen hier en daar ook; tusschen de nerven is het bladweefsel naar boven of naar beneden gebold. Aan de onderzijde der nerven en bladstelen vindt men fijne necrotische streepjes; de knollen zijn vrij van necrose. ATANASOFF entte deze ziekte op Eersteling over, waarbij bleek, dat zij zich op die soort als stippelstreepziekte voordoet. OORTWIJN BOTJES heeft dit ook gedaan met hetzelfde resultaat. ELZE bracht haar door middel van de bladluissoorten *Myzus persicae* en *Aphis rhamni* over op Eersteling, waarbij eveneens stippelstreep te voorschijn kwam. QUANJER heeft de ziekte overgeënt op Paul Kruger en typische stippelstreepziekte gekregen, waarbij ook de eerder genoemde symptomen in de knollen optraden.

Omgekeerd heeft ATANASOFF gezonde Bravo geënt met knollen van stippelstreepziekte Non Plus Ultra, en daarbij krinkel gekregen.

Hierbij dient opgemerkt, dat de krinkelziekte bij andere soorten niet door het stippelstreepvirus wordt teweeggebracht. Zoo worden te Wageningen in de soort Paul Kruger „stippelstreep" en „krinkel" elk afzonderlijk voortgekweekt, zij zijn daarin duidelijk van elkaar te onderscheiden. Inderdaad heeft ELZE door middel van de bladluissoort *Aphis rhamni* krinkel van Bravo op Paul Kruger en Eersteling kunnen overbrengen. Op Bravo zijn dus krinkel en stippelstreep niet of moeilijk van elkaar te onderscheiden; de tweede ziekte toont zich in den vorm van de eerste.

E i g e n h e i m e r. Van Eigenheimerplanten uit de praktijk afkomstig, die jaren lang in Wageningen om een zwakke vorm van

mozaiek waren voortgekweekt, werden in den winter van 1928/29 12 knollen op elk der soorten Paul Krüger, Eersteling en Green Mountain overgeënt. Op al deze soorten verscheen typisch stippelstreep, terwijl ook de knollen de beschreven symptomen vertoonden. Hiermede is niet gezegd, dat alle gevallen van mozaiek, die in de praktijk in Eigenheimer voorkomen door het stippelstreepvirus worden teweeggebracht. Dat dit niet het geval is blijkt wel hieruit, dat OORTWIJN BOTJES jaren achter elkaar duidelijke krinkelsymptomen in Paul Kruger en Zeeuwsche Blauwe verkreeg bij enting met krinkelzieke Eigenheimer, terwijl bij overenting op Paul Kruger en Eersteling nimmer verschijnselen van stippelstreepziekte door hem zijn waargenomen.

K e r r's P i n k. In 1927, '28 en '29 werden entingen verricht van Kerr's Pink met een typische vorm van mozaiekziekte op verschillende Nederlandsche soorten, waarbij bleek, dat deze ziekte identiek is met die, welke hier reeds als „tusschennervig mozaiek" bekend was. Toen een dergelijke enting in het vroege voorjaar van 1929 weer was verricht en wel op de soort Eersteling, kwam daarbij een geval van stippelstreep aan het licht. De plant van Kerr's Pink van welke dit uitging zag er iets meer krinkelachtig uit dan de Kerr's Pink planten, die het tusschennervig mozaiek in zuiveren vorm bevatten.

Stippelstreep Atanasoff, na enting met Zeeuwsche Blauwe voor den dag komend.

(Wageningen, Oostwold.)

Behalve de soorten, waarin stippelstreep in de praktijk is voorgekomen, hetzij als zoodanig of in geheel of gedeeltelijk latenten vorm, zijn er nog een aantal, waarin deze ziekte geheel verborgen blijft. De bekendste daarvan is Zeeuwsche Blauwe. De volgende soorten zijn met Zeeuwsche Blauwe geënt en brachten als gevolg daarvan stippelstreep voort in volledigen, semilatenten, of latenten vorm.

P a u l K r ü g e r; enting verricht te Wageningen en Oostwold; de ziekte is niet te onderscheiden van de in de praktijk voorkomende gevallen. De spruiten van Zeeuwsche Blauwe, die met ziek geworden Paul Krüger zijn verbonden, blijven een gezond uiterlijk behouden.

E e r s t e l i n g; entingen verricht te Wageningen en te Oostwold leverden stippelstreep met alle kenmerken, die uit de praktijk bekend zijn. Zeeuwsche Blauwe spruiten, die uit de geënte knollen opgroeien,

hebben altijd een mozaiekachtig uiterlijk in tegenstelling met de oogenschijnlijk gezonde Zeeuwsche Blauwe, die uit de contrôle stukken opgroeit of die opgroeit uit de stukken waarmee Paul Kruger is geënt.

N o o r d e l i n g. In Oostwold is Zeeuwsche Blauwe op deze soort geënt tengevolge waarvan zij in het midden van den zomer groote gele en bruine vlekken op de benedenste bladeren kreeg, later gevolgd door bladafval. Ten slotte worden ook de bovenste bladeren aangetast, waarbij men soms de typische hoekige zwarte plekjes van het stippelstreep kan waarnemen. Heel dikwijls kan men deze niet zien, zoodat de bladafval het meest kenmerkende verschijnsel is.

G r e e n M o u n t a i n. Planten van deze soort, die te Wageningen uit met Zeeuwsche Blauwe geënte knollen opgroeiden, werden sterk door stippelstreep geteisterd. Toch hielden zij het iets langer uit dan Eersteling, wellicht omdat de Amerikaansche soort later is. Men zag half Juli de zwarte geheel verdroogde struikjes (fig. 7 links) naast de contrôle Zeeuwsche Blauwe (rechts), terwijl op dat tijdstip de geënte rij Eersteling geheel was afgestorven (fig. 6) en er slechts wat onkruid op haar plaats te vinden was. Op de knollen der besmette Green Mountain zag men bij het rooien de bekende blaren, die zich tot necrotische plekken ontwikkelden als bij Paul Kruger en Eersteling. (Bovenste knol van fig. 13 en 14.)

B r a v o; entingen verricht te Wageningen en te Oostwold verwekten verschijnselen van krinkel in Bravo, gelijk aan die welke uit de praktijk bekend zijn. De tweede en derde generatie der aldus ziek gemaakte Bravo zijn in Oostwold naverbouwd; zij weken niet af van de eerst besmette planten. De Eersteling kon uit deze krinkelzieke Bravo steeds weer worden besmet en vertoonde dan typische stippelstreep.

E i g e n h e i m e r. In Oostwold is Zeeuwsche Blauwe op Eigenheimer geënt. De planten der laatste soort bleven zich normaal ontwikkelen. De eenige afwijking, welke kon worden waargenomen, is een zeer licht mozaiek in de bovenste bladeren. In 1927 was dit verschijnsel bij bijna alle planten duidelijk waarneembaar, terwijl het in 1929 slechts bij één van de dertig planten werd waargenomen.

Dit bevestigt de in Wageningen verrichte waarneming, volgens welke het stippelstreep in Eigenheimer in den vorm van zwak mozaiek in de praktijk kan voorkomen.

R o o d e S t a r. Planten van deze soort, waarvan de knollen te Oostwold met Zeeuwsche Blauwe besmet waren, bleven alle normaal. Waar de nabouw van geënte en niet geënte Roode Star naast elkaar stond, kon soms worden waargenomen, dat de geënte eenigszins lichter waren getint. Hoewel het stippelstreep geen duidelijke ziektesymptomen veroorzaakt, blijkt de verwekker toch wel in de planten te leven. Roode Star, die in 1928 was geënt met Zeeuwsche Blauwe, veroorzaakte bij overenting in 1929 op Eersteling duidelijk stippelstreep. Dit is een typisch voorbeeld dat planten van een bepaalde soort „carriers" kunnen zijn van virusziekten. Bij enting van de gewone gezonde Roode Star op Eersteling is geen stippelstreep te Oostwold waargenomen.

E e n z a a i l i n g v a n R o o d e S t a r. In 1927 werd een zaailing, te Wageningen in 1921 door kruising van Roode Star als moeder- en Fransche als vadersoort gewonnen, geënt met Zeeuwsche Blauwe. Zij kreeg een nauwelijks merkbaar mozaiek. Enting van de zaailing met Bravo, in welke stippelstreep als krinkel aanwezig was, leidde eveneens tot een flauw waarneembaar mozaiek. Alleen het eerste geval, van Zeeuwsche Blauwe afkomstig, werd na in 1928 te zijn voortgekweekt, in 1929 op Paul Krüger overgebracht; in 2 van de 12 geënte planten kwamen zwakke maar onmiskenbare symptomen van „stippelstreep Atanasoff" voor den dag, maar in de knollen dezer planten kon geen necrose worden geconstateerd.

Stippelstreep Atanasoff na enting met Bloemgraafjes en Gladblaadjes voor den dag komend.

(Oostwold.)

Daar Bloemgraafjes en Gladblaadjes, evenals Zeeuwsche Blauwe, oude soorten zijn, is nagegaan of zij ook als virusdragers voor stippelstreep kunnen optreden. Dat dit inderdaad het geval is, blijkt uit de volgende enting waarbij „stippelstreep Atanasoff" optrad:

E e r s t e l i n g. In 1928 en '29 zijn te Oostwold stukjes knol van Bloemgraafjes in Eerstelingknollen overgebracht. In beide jaren is een klein percentage van de geënte Eersteling planten stippelstreepziek geworden. Het percentage geslaagde overentingen was steeds kleiner dan bij Zeeuwsche Blauwe, terwijl ook het ziekteproces veel minder snel verliep.

Ook uit de soort Gladblaadjes is in 1929 stippelstreep op Eersteling overgebracht. Het ziekteproces verliep hier iets sneller dan bij de

Eersteling, die met Bloemgraafjes was geënt. Zoowel bij de overbrenging uit Gladblaadjes als uit Bloemgraafjes kregen de Eerstelingen oogziekte.

Stippelstreep Koksiaan (May Queen).

In de soort Koksiaan is in 1921 in Noord-Holland een ziekte gevonden, die eenigszins op krinkel en ook eenigszins op stippelstreepziekte gelijkt. Bij voortteling te Wageningen bleek het krinkelachtig uiterlijk minder opvallend te zijn, maar duidelijk ziet men donkere strooken, die de nerven en de bases der daarop uitmondende zijnerven begrenzen, zonder daarop of op de bladstelen en stengels door te loopen (fig. 4). De vlekken, die aldus ontstaan, zijn sterk getand. De knollen der door deze ziekte aangetaste planten zien er normaal uit. Door enting op Paul Krüger ging een ziekte over, die niet van zwakke gevallen van stippelstreepziekte te onderscheiden was. Op de knollen van de Paul Kruger waren echter geen necrotische plekken te vinden. Het is dus waarschijnlijk, dat de ziekte niet door het stippelstreepvirus veroorzaakt wordt.

ATANASOFF vermeldt, dat hij Koksiaan met stippelstreepzieke Non plus ultra entte, waarvan de planten aanvankelijk in hun groei geen belemmering ondervonden. Maar later kregen zij een krinkelachtig uiterlijk en zwarte strepen. De opbrengst dezer planten was nogal goed en de knollen vertoonden geen ziektesymptomen.

Stippelstreep Noordeling.

Noordeling is volgens waarnemingen van OORTWIJN BOTJES zeer gevoelig voor stippelstreep, die er in de gewone gewassen dikwijls op wordt gevonden. Het stippelstreep, dat men dan vindt, wijkt echter duidelijk af van het stippelstreep, dat uit Zeeuwsche Blauwe wordt verkregen. Scherp kan dit verschil worden waargenomen als beide worden geënt op Bravo. Het blad van de Bravo, welke met Zeeuwsche Blauwe is geënt, is veel meer gewelfd en vertoont scherpere mozaiekachtige vlekken dan dat van de Bravo, die geënt is met stippelstreepzieke Noordeling uit de praktijk. Het verschil blijft ook bij den nabouw bestaan. Ent men beide over op Eersteling dan krijgt men uit beide weer stippelstreepziekteverschijnselen.

Wij meenen het virus, dat de stippelstreepziekte, die in de praktijk in Noordeling voorkomt, althans voorloopig, als een afzonderlijk virus te moeten beschouwen.

Stippelziekte van Eersteling.

In Friesland vond DORST Eerstelingstammen met een op stippelstreep gelijkende, maar later optredende en minder schadelijk wordende ziekte. De vlekken zijn meer rond, niet zich in de nerven verlengend (fig. 5). Zij verbreiden zich niet zoo sterk over de stelen en stengels en vertoonen zich pas als de bladeren voor een groot deel ontplooid zijn. De knollen worden slechts weinig door deze ziekte in hun groei belemmerd, men merkt er geen necrose aan op. Bij voortteling blijkt de ziekte in volgende ongeslachtelijke generaties niet erger te worden. In Wageningen werd zij overgeënt op de soorten Paul Kruger en Green Mountain; ook in deze soorten is zij minder schadelijk dan stippelstreep en laat zij de knollen intact.

ZIEKTEN VAN HET TOPNECROSETYPE.

Topnecrose, latent in Eersteling voorkomend.

Beschrijving naar de soort Bravo.

Elf van de dertig Bravo planten, die in 1929 te Oostwold met Eersteling geënt waren, vertoonden kort na de opkomst buitengewoon heftige ziekteverschijnselen.

Op de topbladeren worden groote zwarte vlekken waargenomen, die steeds het eerst zich vertoonen aan de laagst geplaatste zijblaadjes.

Bij het doorsnijden van den stengel ziet men roestbruine vlekken in het bovenste deel daarvan. Deze vlekken staan niet of niet altijd met den buitenrand van de doorsnede in verbinding. Ze worden later grooter en donkerder getint en verbreiden zich zeer langzaam naar het benedenste deel van den stengel.

De top van de aangetaste planten sterft in korten tijd, terwijl het benedenste deel nog langen tijd blijft leven. In verband met de ziekte in den stengel is de afvoer van assimilaten gestoord en vertoonen de bladeren heftige rollingsverschijnselen. Zeer dikwijls ziet men ook kleine knolletjes aan de bovenaardsche stengels optreden. Dit komt echter slechts voor als de plant reeds tot eenige ontwikkeling is gekomen voor de topnecrose optreedt en de verdere groei verhindert.

Uitwendig is aan de knollen niet heel veel te zien, behalve dan dat de inwendige necrose soms door de schil heen schijnt en dat de knollen dikwijls onregelmatig zijn gevormd. Snijdt men de knollen door, dan ziet men een groot aantal ronde bruine plekken, welke soms contact houden met de oppervlakte, maar meestal geheel inwendig gelegen

zijn. Deze plekken worden later grooter en donkerder, terwijl ten slotte dikwijls niets van de knol overblijft dan een bruinzwarte droge massa. Zeer dikwijls zijn de knollen ook misvormd en vertoonen ze diepe barsten.

In de vijftien jaren gedurende welke hij met aardappelziekten te maken heeft gehad, heeft OORTWIJN BOTJES in de natuur nooit deze „topnecrose" waargenomen. Dit bewijst wel, dat deze ziekte, althans in Nederland, niet of zoo goed als niet voorkomt.

In fig. 8 ziet men een deel van een Bravo plant, welke te Oostwold, in fig. 9 van een, die te Wageningen leed aan topnecrose, terwijl fig. 15 de doorsnede van knollen, die te Oostwold aan de ziekte leden, laat zien.

Dat topnecrose niets te maken heeft met stippelstreep blijkt wel uit een proef te Oostwold genomen, waarbij zoowel stukjes Zeeuwsche Blauwe als stukjes Eersteling in knollen van Bravo werden gebracht. Van de dertig geënte knollen vertoonden vier de verschijnselen van topnecrose, zes leden aan krinkel, terwijl vijf planten beide verschijnselen lieten zien.

De Eersteling welke voor deze topnecrose in Oostwold een „carrier" is, welke geen symptomen van virusziekte vertoont, is herhaaldelijk in Wageningen voor kasproeven gebruikt. Dr. ELZE vestigde daarbij de aandacht van den eersten schrijver op de mozaiekverschijnselen, welke er dan elk jaar in worden waargenomen kort nadat de plant is uitgeloopen en die later minder duidelijk zichtbaar zijn. Een photo van dit mozaiek is opgenomen als fig. 12. Of het een semilatente vorm van topnecrose is, zou alleen kunnen worden uitgemaakt als werkelijk gezonde Eersteling ter beschikking stond.

Na enting met Eersteling voor den dag komende verschijnselen.

(Oostwold, Wageningen.)

Bravo. De ziekte, die bij deze soort optrad na enting met Eersteling, is ook bij de volgende soorten waargenomen.

Industrie. Vijftien van de dertig knollen, die te Oostwold geënt waren met Eersteling, brachten planten voort, welke leden aan topnecrose. De verschijnselen waren precies gelijk aan die van de topnecrose bij Bravo. Ook hier werden knolletjes aan de bovenaardsche stengeldeelen waargenomen bij de planten, die het nog tot eenige ontwikkeling hadden gebracht.

B l o e m g r a a f j e s. Negentien van de dertig planten, waarvan de knollen met Eersteling geënt waren, werden in sterke mate aangetast door topnecrose, zichtbaar in blad, stengel en knol. Reeds bij de opkomst wees de donkere tint der bladeren iets abnormaals in de ontwikkeling aan. Sterke rolling der bladeren en de vorming van bovenaardsche knollen demonstreerden de storing in den afvoer der assimilaten.

R o o d e S t a r. Alle dertig met Eersteling geënte knollen van Roode Star hebben normale planten voortgebracht. Niet onwaarschijnlijk is dit echter een gevolg van de onvolmaaktheid der overbrenging, want de Roode Star is wel vatbaar voor topnecrose. Stukjes Zeeuwsche Blauwe, uit knollen van planten, die in 1928 met Eersteling geënt waren, brachten in 1929 bij twee van de dertig knollen van Roode Star topnecrose over, welke ziekte zich in niets onderscheidde van de ziekte bij Bravo, Industrie of Bloemgraafjes. Voor de vorming van knolletjes aan de stengels bleven de planten te klein. Inwendig in de knollen konden groote necrotische plekken worden waargenomen.

Dat Roode Star verschijnselen van topnecrose kan vertoonen wordt bevestigd door proeven, die te Wageningen genomen waren ter bestudeering eener hier niet nader te bespreken, alleen inwendig in de knollen voorkomende ziekte. Het was de bedoeling na te gaan of een bepaalde stam van Eersteling deze ziekte bevatte en zij werd op Roode Star overgeënt daar Roode Star het bedoelde verschijnsel duidelijk tot uiting brengt. Van de 16 geënte Roode Star knollen brachten er 2 planten met topnecrose voort. Ook sommige knollen van deze planten hadden typische verschijnselen: sterke necrose uitwendig zichtbaar bij de topoogen en inwendig zich door het geheele vleesch uitbreidende necrose. Bij een van deze twee planten bevond zich ook een stengel van Eersteling, die uit de ingedrukte prop was voortgekomen en er volkomen gezond uitzag. Hier had dus directe overgang van Eersteling op Roode Star plaats gehad.

Dat de Roode Star vatbaar is, zal ook nog blijken als de Green Mountain als virusdrager besproken zal worden.

Z e e u w s c h e B l a u w e. Gedurende drie jaren zijn te Oostwold proppen Eersteling gebracht in Zeeuwsche Blauwe. Hierbij werd steeds de waarneming van ATANASOFF bevestigd, volgens welke de geënte Zeeuwsche Blauwe mozaiekachtige verschijnselen vertoonen. Stippelstreepzieke Noordeling verwekte deze verschijnselen echter niet.

Ook blijkt uit de waarnemingen van QUANJER, dat Zeeuwsche Blauwe van Paul Kruger niet, van Eersteling en Green Mountain wel deze verschijnselen overneemt. Men kan hieruit de conclusie trekken, dat zij een semilatente vorm zijn der topnecrose, die slechts in de Eersteling en Green Mountain, niet in de Paul Krüger optreedt.

Eigenheimer. De 60 met Eersteling geënte knollen van Eigenheimer hebben te Oostwold alle gezonde planten opgeleverd. Ook uit Zeeuwsche Blauwe, die het vorige jaar met Eersteling was besmet kon geen topnecrose op Eigenheimer worden overgebracht.

Topnecrose latent in Green Mountain voorkomend.

(Wageningen.)

Om de in Amerika met de in Europa voorkomende virusziekten van de aardappelplant te kunnen vergelijken, werd in den winter van 1927 en '28 materiaal van Green Mountain en andere Amerikaansche aardappelsoorten in Holland ontvangen. Uit de entingen van Green Mountain op Paul Kruger kwam, onverschillig door welke ziekte de eerste soort was aangetast, zeer dikwijls een ziekte voor den dag, die QUANJER herkende als de vroeger in Frankrijk waargenomen „dessiccation des extremités des tiges" en die ook, wat het loof betreft, geheel met de in Oostwold bestudeerde topnecrose overeenkomt. De Eersteling bleef van deze ziekte vrij. Ook van oogenschijnlijk gezonde Green Mountain ging deze ziekte over op Paul Kruger en bij enting op tomaat werd eveneens een ziekte verkregen, die zich kenmerkte door necrotische plekken op bladeren en stengels. Om deze ziekte nader te leeren kennen, werd zij van oogenschijnlijk gezonde Green Mountain in het vroege voorjaar van 1929 op enkele Nederlandsche soorten en een Engelsche soort overgebracht: van elk dezer soorten werden 12 knollen geënt.

Paul Krüger. Hierbij treedt necrose in het loof en de knollen op. Wel is waar zijn hier de toppen der planten wat meer aangetast, maar toch is bij Paul Kruger het onderscheid tusschen stippelstreep en topnecrose minder opvallend. Van buiten gezien lijkt de necrose der knollen op die, welke door het stippelstreepvirus wordt teweeggebracht, het is dus een „oogziekte" (verg. fig. 16 onderste knol met fig. 13 onderste drie knollen). Bij doorsnijden der onrijp (op 20 Juli) gerooide knollen op 6 Sept. bleek de necrose inwendig zich veel sterker te hebben uitgebreid dan bij stippelstreep en wel op een

typische wijze, n.l. beginnend in het inwendig of uitwendig phloeem en vandaar zich sterk uitbreidend (verg. fig 17 onderste knol met fig. 14 onderste drie knollen).

Bravo. Het ziektebeeld in het loof komt overeen met het in Oostwold optredende (fig. 9), de necrose der knollen eveneens. Men ziet haar van buiten bij het topeind en ook inwendig (fig. 16 tweede knol en fig. 17 tweede knol).

Roode Star. Deze soort werd zeer sterk door topnecrose aangetast. De plant, die op 20 Juli gerooid, op vloeistof bewaard en later gephotographeerd werd, toonde toen reeds aan het topeind der knolletjes, die zoo groot als peperkorrels waren, de necrose (fig. 10).

Bevelander. Ook deze had behalve de necrose in het loof, necrose in de knollen. Terwijl bij de gezonde Bevelander de oogen reeds zeer diep liggen, worden de afgestorven oogen der zieke knollen geheel verborgen onder de nog sterk doorgroeiende ooglooze knolgedeelten (fig. 16 derde knol). Inwendig heeft de necrose eveneens eenige omvang aangenomen (fig. 17, derde knol).

Zeeuwsche Blauwe neemt bij enting met Green Mountain precies hetzelfde mozaiek over als zij van Eersteling krijgt.

Van elk der soorten Eersteling en Eigenheimer werden ook 12 knollen met Green Mountain geënt, maar in deze soorten kwam geen topnecrose voor den dag. Waar de Eersteling „carrier" is voor topnecrose ligt dit ook voor de hand. Of de Eigenheimerplanten „carrier" worden na enting met Green Mountain is nog niet nagegaan. Bij enting van Eigenheimers op Industrie, Bravo, Bevelander en Paul Kruger te Oostwold is wel gebleken, dat de daar gebruikte Eigenheimers geen topnecrose overbrengen.

Op de vraag of deze uit Green Mountain voor den dag gekomen ziekte identiek is met de in Oostwold uit Eersteling voortgekomen topnecrose moet geantwoord worden, dat zij wat het loof betreft, daarmede overeenstemt en ook wat het inwendige der knollen betreft. Van buiten gezien echter lijken de knollen der door enting met Green Mountain besmette planten meer op de oogzieke knollen der stippelstreepplanten dan op de knollen, die door Oostwoldsche topnecrose zijn aangetast.

Topnecrose latent bij Monocraat en sommige stammen van Roode Star voorkomend.

Na enting met Monocraat voor den dag komend bij:

Eigenheimer. In 1928 zijn te Oostwold twee van de dertig met Monocraat geënte planten ziek geworden. Ze vertoonden precies hetzelfde beeld als dat, hetwelk boven als topnecrose is beschreven. De knollen van deze planten hebben in 1929 geen scheuten aan de oppervlakte kunnen brengen. In 1929 is de enting opnieuw verricht zonder dat topnecrose is opgetreden.

Eersteling. Bij geen van de dertig met Monocraat geënte planten hebben zich ziekteverschijnselen voorgedaan. Proppen uit knollen van de Eigenheimer planten, die het vorige jaar topnecrose verschijnselen vertoonden door enting van Monocraat, werden in Eersteling gebracht. Bij één der planten bleek de ziekte te zijn overgegaan. Deze plant vertoonde verschijnselen, die in elk opzicht overeen kwamen met de verschijnselen van topnecrose. Ook in de stengels en in de knollen werden dezelfde necrotische afwijkingen waargenomen. In figuur 11 ziet men een dergelijke zieke plant afgebeeld. Voor de vorming van bovenaardsche knollen is het plantje te klein gebleven.

Zeeuwsche Blauwe. Van de 30 met Monocraat geënte knollen bleken er 23 gezonde planten voortgebracht te hebben. Vijf vertoonden een ziektebeeld, dat overeenstemt met dat wat bij enting van Eersteling op Zeeuwsche Blauwe ontstaat. Het loof blijft kleiner, het blad is mozaiekachtig, de stengels zijn slapper dan die van normale planten. De knollen waren inwendig en uitwendig geheel gaaf.

Twee planten bleken echter duidelijk topnecrose te hebben verkregen, die in geen enkel opzicht afweek van de topnecrose, die uit Eersteling op Bravo, Industrie en Bloemgraafjes wordt overgebracht. Ook de knollen vertoonden inwendig gelegen necrotische plekken.

Uit de entingen met Monocraat blijkt, dat uit deze soort een virus kan overgaan, dat Eersteling topnecrose doet krijgen. Dit is zeer merkwaardig omdat schijnbaar gezonde Eersteling zelf een virus bevat, dat bij Bravo, Industrie, Bloemgraafjes en Roode Star topnecrose veroorzaakt. De verschijnselen van de ziekte, die zeer sterk sprekend zijn, verschillen althans in geen enkel opzicht. Natuurlijk is men geneigd aan te nemen, dat hier verschillende vira werkzaam zijn geweest, die gelijke verschijnselen hebben veroorzaakt, maar zekerheid bestaat hieromtrent niet.

Merkwaardig is ook, dat Eigenheimer en Zeeuwsche Blauwe topnecrose kunnen krijgen uit Monocraat en niet uit Eersteling, terwijl Zeeuwsche Blauwe door enting met Monocraat ook gelijksoortige ziekteverschijnselen vertoont als die, welke Eersteling in Zeeuwsche Blauwe verwekt.

Hier liggen zonder twijfel nog onopgeloste problemen.

Topnecrose na enting met Roode Star voor den dag komend.

(Wageningen.)

In den winter 1926/'27 werden aan het Laboratorium voor Mycologie en Aardappelonderzoek partijen Roode Star ontvangen van verschillende herkomst. Zij werden gebruikt voor de proeven van Mej. DE BRUYN over het blauwworden (9) en toen in den volgenden winter de geoogste knollen werden doorgesneden, bleek in de nateelt van de Roode Star uit den Wilhelminapolder een ziekte voor te komen, die zich kenmerkt door het optreden van eenigszins regelmatig binnen en buiten den houtvaatring gerangschikte vlekjes. De stam uit den Wilhelminapolder was uit Friesland afkomstig en hij was van het donkere type, waarin ook in Friesland dezelfde ziekte was voorgekomen. Zij werd het eerst genoemd door DORST (10) en is door QUANJER, THUNG en ELZE beschreven als „pseudonetnecrose". Knollen met deze „pseudonetnecrose" (ook een virusziekte) werden in 1928 uitgepoot afwisselend met een dozijn andere aardappelsoorten om daarvan de vatbaarheid te beproeven, en de nateelt van de Roode Star, die hierbij als infectiebron gediend had, werd ook nog eens gebruikt voor entproeven met dezelfde soorten. Hierbij kwam op 5 soorten n.l. Paul Kruger, Industrie, Zeeuwsche Blauwe, een zaailing van Roode Star en Bintje geheel onverwacht een op topnecrose gelijkende ziekte voor den dag.

Het is niet zeker, dat deze ziekte al in den Wilhelminapolder in de Roode Star voorkwam; de proeven over „pseudonetnecrose" toch werden pas in September beëindigd, en dan kan er gemakkelijk een virus tot de knollen zijn doorgedrongen. In de Roode Star planten werd trouwens in 1928 ook een licht mozaiek waargenomen. Deze topnecroseziekte werd niet waargenomen bij entingen van dezelfde soorten met Roode Star, ontvangen van Dr. OORTWIJN BOTJES uit Oostwold. Wel werd, zooals eerder vermeld, een der Oostwoldsche planten door schijnbaar gezonde Eersteling met topnecrose besmet.

De volgende bijzonderheden over deze proef dienen hier te worden vermeld:

De nateelt der Zeeuwsche Roode Star stam werd dus op 12 andere soorten geënt. Telkens werden uit elke Roode Star knol 2 stukken geboord en daarmede werden 2 knollen van een der andere soorten bedeeld. Bij 7 van de geënte Paul Kruger (geënt met 4 Roode Star knollen) bij 2 van de 12 geënte Industrie (geënt met één Roode Star knol), bij 1 van de geënte Zeeuwsche Blauwe, bij 2 van de geënte Zaailing van Roode Star (geënt met stukken elk uit een andere Roode Star knol), bij 4 van de geënte Bintje (2 uit één Roode Star knol en 2 andere uit 2 andere Roode Star knollen) trad de op topnecrose gelijkende ziekte op. In het loof althans was deze ziekte van topnecrose niet te onderscheiden; de knollen toonden van buiten gezien niets abnormaals (Blauwe, Bintje), of door de schil heen schemerde donkere plekken (Zaailing), of donkere nauwelijks opgezwollen blaren tusschen de oogen (Paul Kruger) of een zwakke vorm van oogziekte (Industrie). Van buiten gezien deden deze donkere plekken eenigszins aan Phytophthoraziekte denken. Enkele knollen waren onregelmatig gevormd. Bij de aangetaste knollen kwamen ook inwendige necrotische plekken voor, (fig. 18 en 19, linksch twee knollen Paul Kruger, die de inwendige necrose slechts zwak heeft, derde knol Industrie, vierde Blauwe, vijfde en zesde Zaailing, zevende of bovenste Bintje). Kans op verwarring met symptomen der pseudonetnecrose is er niet, want deze begint zich pas in 't eind van den winter te vertoonen, terwijl de bij de topnecrose behoorende inwendige necrose der knollen al is te vinden bij het oogsten. Jammer genoeg zijn bij de Industrie de Roode Star contrôle planten niet opgekomen. De twee gaten en het uitstellen der paraffinebehandeling hadden verdroging der uitgeboorde knollen tengevolge gehad. Bij de geënte Paul Kruger, Zeeuwsche Blauwe, Zaailing en Bintje waren de contrôle R. Star planten aanwezig, en hierin kwam geen topstreak voor, ofschoon zij niet vrij waren van een licht mozaiek, waarvan echter niet bekend is of het bij deze vorm van overigens latente topnecrose behoort. De contrôle Paul Kruger, Industrie, Zeeuwsche Blauwe, Zaailing en Bintje waren gezond. Merkwaardig is, dat oogenschijnlijk gezonde Eersteling topnecrose bezorgde aan Roode Star uit Oostwold, terwijl hier de nateelt der Zeeuwsche Roode Star als carrier optrad van een op topnecrose gelijkende ziekte, en daarmee andere soorten besmette, waaronder de Zeeuwsche Blauwe, die ook op het virus uit Monocraat met alle symptomen van de Oostwoldsche

„topnecrose" reageerde. Voorzoover dit uit de symptomen van Zeeuwsche Blauwe is te beoordeelen, is de latent in Roode Star voorkomende topnecrose identiek met die voor welke Monocraat carrier is.

HET VRAAGSTUK DER ZOOGENAAMDE PHYSIOLOGISCHE SPECIALISATIE.

De eerste schrijver ziet een verband tusschen de door beiden waargenomen verschijnselen en de z.g. physiologische specialisatie. Het volgende geeft zijn inzichten hieromtrent weer.

Nadat ERIKSSON in 1894 „formae speciales" van de zwarte graanroest *Puccinia graminis* ontdekt had, zijn tal van andere pathogene schimmels, die men vroeger voor homogeen hield, gebleken te bestaan uit een complex van rassen. Als voorbeeld kan genoemd worden *Colletotrichum Lindemuthianum*, die de vlekziekte der boonen veroorzaakt. BARRUS (1911) was de eerste, die uit infectieproeven met reincultures concludeerde, dat er 2 rassen van de zwam moeten bestaan, die verschillen in infectievermogen ten opzichte van verschillende boonenvariëteiten. Zijn werk is uitgebreid door anderen; zoo vond H. R. A. MULLER, (18) dat in Nederland minstens vier biologische vormen van *C. Lindemuthianum* bestaan, die niet identiek zijn met de Amerikaansche vormen. Wanneer men de rassen der boonenschimmel aanduidt als a, b, enz. en hun gedrag nagaat ten opzichte van twee boonensoorten P en Q, dan kan P resistent zijn ten opzichte van a en vatbaar voor b, maar met Q kan het precies het tegenovergestelde zijn, dus vatbaar voor a en resistent tegen b. Herhaalt men de infectieproeven met een ras c, dan kan er weer wat nieuws voor den dag komen, b.v. een ziek worden van P en Q, maar in verschillende mate of met eenigszins verschillende symptomen. En als er nu een vierde schimmelras in het spel komt en zijn krachten beproeft op de beide boonenrassen, dan ziet men weer wat anders, b.v. beide boonenrassen zijn resistent. Zoo kan men door infectieproeven op een gering aantal rassen eener waardplantsoort een veel grooter aantal rassen eener parasitaire schimmel onderscheiden. Men noemt de hiervoor geschikte waardplantrassen „differential hosts" en men is door middel van zulke „onderscheidende waardrassen" van de boonenschimmel reeds een tiental en van de zwarte graanroest een vijftigtal rassen op het spoor gekomen.

Men noemt zulke rassen physiologisch gespecialiseerd maar een nauwkeurige studie heeft aangetoond, dat er dikwijls ook kleine mor-

phologische verschillen tusschen bestaan. Ook zijn er tusschen de symptomen, die elk dezer rassen bij de waardplantrassen teweeg brengt in den regel verschillen waar te nemen, b.v. het eene Colletotrichum ras doodt de toppen der planten, een ander tast de bladstelen en stengels van een lager deel der planten aan zonder ze te dooden, enz.

Zoekt men voor deze beschouwing een eenvoudige voorstelling, dan kan de volgende daarvoor dienen.

	P	Q
a	—	+
b	+	—
c	±	+!
d	—	—

reactie + positief, — negatief, ± zwak, +! afwijkende symptomen.

De zaak wordt echter gecompliceerd door het feit, dat niet in alle landen en alle jaren de reactie van een bepaald schimmelras op een bepaald ras van waardplant dezelfde is; deze reactie toch wordt tot zekeren graad beïnvloed door bodem en klimaat.

En zelfs gaat men er in den laatsten tijd aan twijfelen of de relaties, die er tusschen de rassen der parasieten en die hunner waardplanten bestaan, wel blijvend constant zijn. Men kent gevallen van verzwakking der virulentie eener parasitaire schimmel na herhaalde overenting van mycelium op kunstmatige voedingsbodems en van versterking na passage door de waardplant, of, zooals GOOSSENS (13) ons geleerd heeft, nadat zij de gelegenheid heeft gehad een bepaald type van sporen te vormen. En zelfs zijn er zwammen, die bij passage door een voedsterplant niet alleen in virulentie, maar zelfs in vorm een blijvende verandering ondergaan, zooals MULLER voor de vruchtenschimmel *Gloeosporium fructigenum* aantoonde. Deze waarnemingen zullen, bij voortzetting, ons wellicht over het ontstaan van rassen en soorten veel leeren.

De voorafgaande beschouwing laat zich toepassen op de vira, die de besproken aardappelziekten veroorzaken, met dien verstande, dat wij hier inplaats van met werkelijke resistentie, te doen hebben met een passief doorlaten of tolerantie, terwijl vatbaarheid hier neerkomt op actief reageeren. Nemen wij als a stippelstreep en als b de uit

Eersteling en Green Mountain voortkomende topnecrose — gesteld dat dit dezelfde ziekte is, wat wij op grond der symptomen nog betwijfelen — dan blijkt Roode Star ten opzichte van a tolerant, ten opzichte van b vatbaar te zijn, terwijl Eersteling ten opzichte van a vatbaar en ten opzichte van b tolerant is. Voor de praktijk beteekent dit, dat oogenschijnlijk gezonde Eersteling en Roode Star beide ziek kunnen worden alleen door ze naast elkaar te verbouwen.

Maar nu is er uit Monocraat een schakeering van deze topnecrose (c) voortgekomen, waarop Eersteling reageert; en uit Roode Star ook een (d) die op Eersteling nog beproefd moet worden, maar waarop, evenals op c, Z. Blauwe reageert. Het is duidelijk, dat de vraag of deze c en d inderdaad verschillend zijn, door zorgvuldig gekozen differential hosts nader moet worden beslist. Thans komen wij voor de vier genoemde vira tot de volgende voorstelling:

	Ee	R.S.	Z.B.
a	+	—	—
b	—	+ !	±
c	+ !		+ !
d		—	+ !

reactie + positief, + ! met bijzondere symptonen, — negatief, ± semilatent.

Wanneer de uit Amerika ontvangen mededeelingen over „yellow dwarf" juist zijn, — en de waarnemingen te Wageningen bevestigen die — dan geldt voor deze virusziekte ook, dat een aardappelras in het eene klimaat op een geheel andere wijze kan reageeren dan in het andere. Trouwens wij wisten reeds lang, dat zwak mozaiek bij sommige aardappelsoorten in Juni veel gemakkelijker te herkennen is dan in het heetst van den zomer. Hier zijn het de hooge temperaturen die maskeerend werken, bij „yellow dwarf" de lage; dit laatste geldt volgens ATANOFF ook voor stippelstreep.

Tenslotte zijn er aanwijzingen voor, dat de virulentie, voorzoover die kan beoordeeld worden uit de reactie eener plant, na herhaalde passage door bepaalde waardplanten toeneemt of afneemt. Reeds werden in de literatuurbespreking waarnemingen van JOHNSON en van

KENNETH SMITH genoemd, die op de mogelijkheid van virulentieverhooging wezen.

Omgekeerd heeft men gevonden, dat passage door bepaalde planten een virus kan verzwakken. Komkommersap of passage door komkommer doet het infectievermogen van het virus van het tabaksmozaiek achteruitgaan, hetgeen blijkt uit een vermindering van het percentage der infecties dat gelukt, een vermindering der duurzaamheid en een verlaging van het temperatuurmaximum van het virus (MC KINNEY 1927). Dat te Oostwold bij enting van Eersteling, Eigenheimer en Zeeuwsche Blauwe met Monocraat topnecrose wordt verkregen, terwijl deze ziekte in de genoemde soorten latent blijft als zij uit Eersteling afkomstig is, zou ook verklaard kunnen worden door aan te nemen, dat er bij passage door Monocraat een virulentieverhooging heeft plaats gehad. Dat te Wageningen bij enting van het latente stippelstreep uit Zeeuwsche Blauwe op de Zaailing een latente ziekte optreedt, die bij enting op Paul Krüger zich weer, hoewel zwak, als stippelstreep doet kennen zonder de knollen aan te tasten, doet denken aan de mogelijkheid eener verzwakking der virulentie in de zaailing. Ook deze vragen moeten door de methode van enting op zorgvuldig gekozen „onderscheidende waardrassen" tot oplossing worden gebracht. Voorzoover men evenwel thans het geheele probleem der vira overziet, kan de vergelijking met andere parasitaire organismen vrijwel volledig worden doorgevoerd.

In hoeverre de thans verkregen resultaten meer volledig door een differentiaal-tabel kunnen worden weergegeven, leeren de volgende bladzijden.

SAMENVATTING DER RESULTATEN.

Stippelstreep Atanasoff komt met haar karakteristieke, door ATANASOFF volledig beschreven symptomen in loof en knollen in Nederland o. a. voor bij de aardappelsoorten Paul Kruger (fig. 1, 13 en 14, onderste 3 knollen) en Eersteling (Duke of York) (fig. 13 en 14, 4de knol). In Amerika komt zij voor o. a. bij Green Mountain. Bij andere soorten komt zij, zooals bij overenting op Paul Krüger of Eersteling bleek, in de praktijk voor in semilatenten vorm, n.l. bij Bravo (fig. 3) met krinkel- en bij Eigenheimer met mozaieksymptomen, terwijl enkele planten van Roode Star en Kerr's Pink, die er eenigszins mozaiek uitzagen, ook het stippelstreep-virus bleken te bevatten. In Amerika komt zij met symptomen, die meer op krinkel dan op stippelstreep lijken voor bij Rose 4.

TABEL DER REACTIE OP ONDERSCHEID

	Paul Kruger	Eersteling	Bravo	Koksiaan	Noordeling
Stippelstreep Atanasoff . . .	S A	S A	∓		S A
Stippelstreep Koksiaan . . .	S K			S K	
Stippelstreep Noordeling . . .		S N	±		S N
Stippelziekte	S	S			
Topnecrose uit Eersteling . .	T E	—	T E		
Topnecrose uit Green mountain	T G	— ?	T G		
Topnecrose uit Monocraat . .		T M			
Topnecrose uit Roode Star . .	T R				

S A volledig als stippelstreep Atanasoff
S K als stippelstreep Koksiaan (May Queen)
S N als stippelstreep Noordeling
S als stippelziekte
T E als topnecrose uit Eersteling (Duke of York)
T G als topnecrose uit Green Mountain
T M als topnecrose uit Monocraat
T R als topnecrose uit Roode Star.

Stippelstreep komt in volledig latenten vorm voor in Zeeuwsche Blauwe, Bloemgraafjes en Gladblaadjes. Bij overenting uit deze soorten ontstond in Eersteling typisch stippelstreep (fig. 2 en 6). Bij overenting uit Zeeuwsche Blauwe bovendien in Paul Krüger, Noordeling en Green Mountain (fig. 13 en 14 bovenste knol). Bij overenting op Bravo ziet men krinkel (fig. 3), bij overenting op Eigenheimer en Roode Star zeer geringe mozaiekachtige symptomen verschijnen. Bij deze laatste drie soorten blijven de knollen intact; zij brengen den semi-latenten vorm der ziekte op volgende generaties over.

TEN (DIFFERENTIAL TABLE).

n- er	Zaailing R.S.	Roode Star	Green Mountain	Industrie	Bloem-graafjes	Glad-blaadjes	Kerr's Pink	Bintje
	±	—	S A		—	—	±	
			S					
		T E		T E	T E			
		T G	—					
	T R	—		T R				T R

Semilatentie wordt voorgesteld door ±

Latentie door —

Een vraagteeken is toegevoegd wanneer omtrent de reactie of de beteekenis daarvan twijfel overblijft.

Niets is ingevuld als nog onbekend is hoe variëteit en virus op elkaar inwerken.

Stippelstreep Koksiaan (May Queen). In deze soort komt een aan stippelstreep herinnerende ziekte voor (fig. 4), die bij overenting op Paul Kruger de knollen intact laat.

Stippelstreep Noordeling. Ook bij deze soort komt een op stippelstreep gelijkende doch daarmede niet geheel identieke ziekte voor.

Stippelziekte van Eersteling is een later optredende minder sterk op de stengels, en niet op de knollen overgaande ziekte

(fig. 5). Zij komt voor bij Eersteling en is overgeënt op Paul Krüger en Green Mountain.

T o p n e c r o s e   l a t e n t   i n   E e r s t e l i n g   v o o r k o m e n d. Onder „topnecrose" verstaan de schrijvers een complex van in het loof volkomen, in de knollen iets minder op elkaar gelijkende ziekten. De toppen der planten worden geheel necrotisch; in den stengel, onder de oppervlakte, komen necrotische strepen en plekken voor. Een dezer ziekten is opgetreden bij enting van Bravo (fig. 8 en 15), Industrie, Bloemgraafjes en Roode Star met oogenschijnlijk gezonde Eersteling. De necrose der knollen was in deze gevallen soms wel en soms niet aan de oppervlakte der knollen te zien, maar kon in sterke mate worden waargenomen in het inwendige. Eigenheimer nam de symptomen dezer ziekte niet aan. Op Zeeuwsche Blauwe ontstaat bij overenting met oogenschijnlijk gezonde Eersteling een soort mozaiek. Deze Eersteling vertoont zelf bij trekken in de kas ook een soort mozaiek (fig. 12).

T o p n e c r o s e   l a t e n t   v o o r k o m e n d   i n   G r e e n   M o u n t a i n. Een tweede ziekte van dit type is opgetreden bij enting van Paul Kruger (fig. 16 en 17, onderste knol), Bravo (fig. 9, 16 en 17, tweede knol), Roode Star (fig. 10), Bevelander (fig. 16 en 17, derde knol), en Kerr's Pink (fig. 16 en 17, vierde en vijfde knol), met oogenschijnlijk gezonde Green Mountain. Ook SCHULTZ heeft deze ziekte opgemerkt bij het enten van Green Mountain op Hollandsche soorten. Zij lijkt volgens hem op „streak", maar hij beschrijft niet hare symptomen in de knollen. De toppen der planten werden typisch necrotisch, de knollen hebben uitwendig zichtbare necrose bij en tusschen de oogen, zoodat zij lijken op de oogzieke knollen der door stippelstreep aangetaste planten, maar bovendien hebben zij sterke inwendige necrose. Eersteling en Eigenheimer namen de symptomen dezer ziekte bij enting met Green Mountain niet aan. In Zeeuwsche Blauwe wordt na enting met Green Mountain een soort mozaiek opgemerkt. Wanneer bij nadere beschouwing het gering verschil in knolsymptomen van geen beteekenis blijkt te zijn, moet deze ziekte geacht worden indentiek te zijn met de voorgaande.

T o p n e c r o s e   l a t e n t   v o o r k o m e n d   i n   M o n o c r a a t. Een derde ziekte, die wat haar verschijnselen in het loof betreft, precies op topnecrose gelijkt en die in de knollen inwendige necrose veroorzaakt, welke inwendige necrose aan de oppervlakte niet of slechts in geringe mate en dan op de plaats der oogen niet sterker dan

tusschen de oogen waarneembaar is, komt latent voor in Monocraat en is van deze soort overgebracht in Eigenheimer en Zeeuwsche Blauwe en via Eigenheimer in Eersteling (fig. 11).

Topnecrose latent voorkomend in sommige stammen van Roode Star. Een ziekte, die waarschijnlijk met de vorige identiek is, komt latent voor in de Roode Star en kwam voor den dag bij overenting op Paul Kruger, (fig. 18 en 19, linksche 2 knollen), Industrie (fig. 18 en 19, 3de knol), Zeeuwsche Blauwe (fig. 18 en 19, 4de knol), een zaailing van Roode Star (fig. 18 en 19, 5de en 6de knol) en Bintje (fig. 8 en 19), 7de of bovenste knol).

Yellow dwarf. Een ziekte, die in de Vereenigde Staten voorkomt in Green Mountain, gelijkt wat de necrose in het loof en in de stengels en knollen betreft precies op de topnecrose, maar heeft een hooger temperatuursoptimum, hetgeen blijkt uit het feit, dat zij in ons koel klimaat niet voor den dag komt. Overeenkomstige ervaring had men reeds in Amerika verkregen.

POTATO DISEASES OF THE STREAK- AND TOPNECROSIS-TYPE AND THE PROBLEM OF „CARRIERS" AND PHYSIOLOGICAL SPECIALISATION.

(With explanation of figures.)

„Streak" is a complex of different virus diseases, — the analysis of which by MURPHY's method of „core grafting", has revealed the following diseases.

1. Stipplestreak Atanasoff has been extensively described by ATANASOFF. It occurs in the Dutch variety Paul Kruger (called President in England), in the Scottish variety Duke of York (cultivated as first early and called Eersteling in Holland) and in the American variety Green Mountain, all of which show full symptoms i.e., long dark stripes on petioles and stems and angular brownish black leaf spots elongated in the veins, (fig. 1); these spots are sometimes numerous and small (fig. 2). The tubers develop symptoms which have given rise to the name „eye disease" or „blindness": blisters develop, on the surface of the tubers, near or between the eyes, these being eventually killed. Such blisters sink and turn brownish black in the centre (fig. 13 and 14). In the secondary form, heavy wrinkling and streaking, reduced growth, and premature death of the shoots takes place. This disease occurs in semi-latent form, resembling more or less MURPHY's „crinkle" in the Dutch variety Bravo (fig. 3) and the American variety Rose 4; it occurs in semi-latent form, resembling mild mosaic, in the Dutch variety Eigenheimer. None of the varieties harbouring the disease in semi-latent form show tuber symptoms. It occurs in entirely masked form in the old Dutch varieties Zeeland Blue, Bloemgraafjes and Gladblaadjes. The effect of grafting Zeeland Blue on to Duke of York is shown in fig. 6 (plants killed in the beginning of July), and the effect of grafting Zeeland Blue on to Green Mountain is shown in fig. 7 (plants killed in the middle of July) (cp. ATANASOFF (4), MURPHY and MC KAY (20).

2. Stipplestreak Koksiaan in the English potato variety May Queen (Dutch name Koksiaan). The spots surround the veins and do not extend on the petioles and stems (fig. 4); no symptoms occur on the tubers. Grafting on Paul Kruger resulted in a somewhat modified type of stipple streak, which did not affect the tubers.

3. Stipplestreak Noordeling in the Dutch potato variety Noordeling. In this variety a disease occurs, which, grafted on Bravo, resembles crinkle; this crinkle, however, is not identical with that obtained when the stipple streak mentioned above under 1 is grafted on Bravo. In the latter case the wrinkling and motling is more accentuated, and the difference is still evident when both diseases are propagated on Bravo. If grafted on Duke of York, both diseases are indistinguishable from stipplestreak Atanasoff, and this also holds good for the tuber symptoms. When stipplestreak Atanasoff is grafted on Noordeling, a disease is obtained which causes more leaf drop than the disease found in the fields in the same variety which has been described here as „stipplestreak Noordeling".

4. Stipple disease of Eersteling, occurring in Duke of York (Dutch name Eersteling) causes brownish black leaf spots (fig. 5) less angular than those of stipplestreak Atanasoff, no stripes on petioles and stems, and no symptoms in the tubers; it appears later in the season than stipplestreak, and is less serious, recurring annually in the progeny without killing the plants. This disease has been transmitted to Paul Krüger and Green Mountain, where it causes symptoms somewhat similar to those observed in Duke of York.

„Topnecrosis". As a result of core grafting in some potatoes of Scottish, American and Dutch origin a virus was detected, causing a disease in other Dutch varieties which had never been observed in Holland in the field. This disease is called „topnecrosis". More than one disease of this type exists.

5. Topnecrosis latent in Duke of York. When tubers of apparently healthy plants of this variety are grafted on those of the Dutch varieties Bravo, Bloemgraafje and Roode Star and the German variety Industrie, a heavy streak kills the tops of the plants (fig. 8); necrosis is found in the interior of the stalks and tubers (fig. 15). The symptoms resemble those of yellow dwarf (cp. last page of this summary). Grafting with Duke of York produces a mosaic in Zeeland Blue; but Eigenheimer does not show any symptoms after similar treatment. Grown in the field Duke of York exhibits no symptoms but it is a complete carrier. When grown in the greenhouse, however a mild form of mosaic can be observed (fig. 12).

6. Topnecrosis latent in Green Mountain. In 1924 SCHULTZ (27) grafted apparently healthy Green Mountain on

the Dutch varieties Bravo and Paul Kruger, on the English variety May Queen (called in Holland Koksiaan), on a variety which was wrongly called Duke of York that year in Holland and also on the Scottish variety Arran Comrade. In all these varieties and also in some American seedlings he obtained a disease more or less resembling streak. Similar graftings carried out in Holland with apparently healthy Green Mountain, obtained through the courtesy of Dr. E. S. SCHULTZ and Dr. K. H. FERNOW, on the varieties Paul Krüger, Bravo, Roode Star, Bevelander and the English variety Kerr's Pink, resulted in a disease agreeing entirely as regards foliage symptoms (fig. 9 en 10), with the top necrosis described above under 5. In the tubers of the inoculated plants necrosis occurs on and between the eyes and in the interior (fig. 16, 17). (No mention is made of tuber symptoms bij Schultz). From the exterior the tuber necrosis somewhat resembles eye disease occurring as a symptom of stipplestreak. In the Dutch variety Zeeland Blue the disease exhibits itself as mosaic, but in the varieties Eigenheimer and Duke of York it remains invisible. From SCHULTZ' graftings it appears probable that the American varieties Rural New Yorker, Irish Cobler, Russett, Spaulding Rose, Early Rose and Bliss Triumph are also carries of the disease (cp. also JOHNSON 16, GARDNER and KENDRICK 12, BERKELEY 6, BLOOD 8 and BLODGETT 7).

7. Topnecrosis latent in the Dutch variety Monocraat. When this variety is grafted on to Zeeland Blue and Eigenheimer or when it is grafted on Duke of York (fig. 11), via Eigenheimer a disease develops which exhibits symptoms identical with those described above under 5. That it is not the same disease is probable from the fact that it attacks Duke of York, whereas in topnecrosis N°. 5, Duke of York is merely a carrier. What appears to be the same disease occurs in masked form in Roode Star. When some strains of this variety are grafted on the Dutch varieties Paul Krüger, Zeeland Blue, Bintje on a seedling of Roode Star and on the German variety Industrie a disease occurs which is probably identical with that for which Monocraat is a carrier; the symptoms in Zeeland Blue are, at least, identical. Tuber symptoms are shown in fig. 18 and 19.

8. Yellow dwarf. Green mountains harbouring a disease called by BARRUS and CHUPP (5) yellow dwarf were obtained through the courtesy of Dr. E. S. SCHULTZ and Dr. K. H. FERNOW.

„The growing apex dies early and later the axillary buds are also killed". „A longitudinal section of the entire length of a stalk reveals the presence in the upper portion of rusty colored specks in the pith and cortex at the nodes. In some plants this specking may be found in the tissues of the internodes as well. This discoloration of the cortex often becomes sufficiently pronounced as to be observed from the outside through the epidermis." „Occasionally the tubers are irregular, sometimes knobby and cracked. Sometimes large and smooth tubers are produced". „This (discoloration of the flesh of the tubers) usually appears as rusty brown specks or areas surrounding the pith area but occurring more or less throughout the surrounding medullary regions or perimedullary tissue and in the cortex". „Not all tubers from affected plants show internal discoloration". „Sometimes tubers are found that show only one or a few small grayish-brown spots in the cortical region". According to this American description it resembles topnecrosis in its shoot and tuber symptoms. It is, however, not the same disease, since it does not develop in the cool summer climate of Holland. This agrees with the information received from Dr. SCHULTZ: „distinct yellowing, followed by early dying of upper leaves favored by higher temperature" and from Dr. FERNOW: „yellow dwarf is a disease which, so far as I know, appears only in New York and Vermont. We have found it very difficult to obtain plants from the tubers unless one is careful about the temperature. If the temperature is high, plants ordinarily do not come above the ground. On the other hand, if the temperature is kept low, the plant may grow but show no symptoms of disease. We find the best method is to grow the plant at about 15 degrees C until five or six inches high, and then place at a temperature of 25 degrees C".

It has been tried to compare the virus diseases of the necrotic type attacking the potatoplant with the physiological strains of a pathogenic fungus. The results of inoculations on differential hosts are given on pp. 32 and 33. The signification of the signs used is S A: symptoms of streak Atanasoff, S K: of streak May Queen, S N: of streak Noordeling, S: of stippledisease, T E: of the topnecrosis latent in Duke of York, T G: in Green Mountain, T M: in Monocraat, T R: in Red Star. A semi-latent reaction is indicated by ±, latency (carriers) by —, a doubtful result by?

GERAADPLEEGDE LITERATUUR.

1. ATANASOFF, 1923. Stipple-streak of potato. Mededeelingen van de Landbouwhoogeschool, Deel 24, 5de verh.

2. —— 1923. A study into the literature on stipple-streak and related diseases of potato. Mededeelingen van de Landbouwhoogeschool, Deel 26, 1ste verh.

3. —— 1925. New studies on stipple-streak disease of potato. Phytopathology XV, p. 170.

4. —— 1926. The stipple-streak of potato, a complex problem. Bulletin of the Bulgarian Botanical Society. Vol. I, p. 43.

5. BARRUS and CHUPP, 1922. Yellow dwarf of potatoes. Phytopathology, XII, p. 125.

6. BERKELEY, 1927. Studies in tomato streak. Sci. Agr. 7, No. 6, p. 210.

7. BLODGETT, 1927. A potato virus on peppers. Phytopathology XVII, p. 775.

8. BLOOD, 1928. A „streak" of tomatoes produced by a disturbing principle from apparently healthy potatoes in combination with tomato mosaic virus. Phytopathology XVIII, 3. p. 311.

9. BRUYN, DE 1929. Het blauw worden van aardappelen. Tijdschr. Plantenziekten XXXV, p. 185.

10. DORST, 1924. Knopmutatie bij den aardappel. Genetica VI, p. 1.

11. ELZE, 1927. De verspreiding van virusziekten van de aardappel (Solanum tuberosum L.) door insekten. Mededeelingen van de Landbouwhoogeschool, Deel 31, 2de verh.

12. GARDNER and KENDRICK, 1927. Potatoes a virus disease menace to tomatoes. Hoosier Horticulture. Indiana Horticultural Society, Vol. IX, pp. 5—8.

13. GOOSSENS, 1928. Onderzoek over de door Phoma apiicola Klebahn veroorzaakte schurftziekte van de knolselderij en over synergetische vormen en locale rassen van deze zwam. Tijdschr. Plantenziekten XXXIV, p. 273.

14. HENDERSON SMITH, 1928. The transmission of potato mosaic to tomato. Ann. appl. Biology, XV, No. 4, pp. 517—528.

15. HUNGERFORD, 1922. Leafroll, mosaic and certain other related diseases in Idaho. Phytopathology XII, p. 133.

16. JOHNSON, 1925. Transmission of viruses from apparently healthy potatoes. Res. Bulletin 63, Agr. Exp. St. Univ. of Wisconsin.

17. MC KINNEY, 1927. Factors affecting certain properties of a mosaic virus. Journ. Agr. Res. XXXV, p.l.

18. MULLER, H. R. A., 1927. Onderzoekingen over Colletotrichum Lindemuthianum (Sacc. et magn.) Bri. et Cav. en Gloeosporium fructigenum Berk. forma hollandica nova forma. Med. v. d. Landbouwhoogeschool. Deel XXX. Verh. 1.

19. MURPHY, 1920. Investigation of potato diseases. Dep. o. Agric. Canada. Bull. 44, Ser. II.

20. MURPHY and MC KAY, 1926. Methods for investigating the virus diseases of the potato, and some results obtained by their use. Scient. Proc. Royal Dublin Society, Vol. XVIII (N.S.) No. 14, p. 169.

21. OORTWIJN BOTJES, 1928. Iets omtrent de beteekenis van enkele aardappelziekten en vooral van het licht mozaiek bij verschillende rassen. Landbouwkundig tijdschrift XXX, p. 687.

22. ORTON, W. A., 1920. Streak disease of potato. Phytopathology X, p. 97.

23. QUANJER et FOEX, 1921. Mission d'études sur les maladies de la pomme de terre en France. Annales des epiphyties. Tome VII, p. 267.

24. QUANJER, 1923. General remarks on potato diseases of the curl type. Report of the international conference of Phytopathology and Economic Entomology, Wageningen, 1923.

25. ——, THUNG en ELZE, 1929. Pseudonetnecrose van de aardappel. Med. v. d. Landbouwhoogeschool (tweede verh. volgende op deze).

26. SCHULTZ and FOLSOM, 1923. Transmission, variation and control of certain degeneration diseases of Irish potatoes. Jour. Agr. Res. XXV, p. 43.

27. —— ——, 1925. Infection and dissemination experiments with degeneration diseases of potatoes. Observations in 1923. Journ. Agr. Res. XXX, p. 493.

28. ——, 1925. A potato necrosis resulting from cross-inculations between apparently healthy potatoes. Science N.S. LXII, pp. 571—572.

29. SMITH KENNETH, M. 1929. Studies on potato virus diseases. IV Further experiments with potato mosaic. Ann. appl. Biol. XVI, No. 1.

30. THUNG, 1928. Over knolentingen, die ter bestudeering der virusziekten van de aardappelplant worden uitgevoerd. Tijdschr. o. Plantenziekten, XXXIV, p. 195.

VERKLARING DER FIGUREN.

(Explanation of figures in English Summary p. 36.)

Fig. 1. Stippelstreep op blad van Paul Krüger (Wageningen).

„ 2. Stippelstreep op blad van na knolenting met Zeeuwsche Blauwe ziek geworden Eersteling (Duke of York) (Oostwold).

„ 3. Stippelstreep in den vorm van krinkel op Bravo (Oostwold).

„ 4. Koksiaan (May Queen) met de in den tekst beschreven op stippelstreep gelijkende maar de knollen niet aantastende ziekte (Wageningen).

„ 5. Stippelziekte in blad van Eersteling (Wageningen).

„ 6. Rechts 12 oogenschijnlijk gezonde Zeeuwsche Blauwe; links rij waar 12 door knolenting hiermee besmette Eersteling planten reeds zijn afgestorven zoodat slechts onkruid zichtbaar is, Wageningen, 20 Juli 1929.

„ 7. Rechts 12 oogenschijnlijk gezonde Zeeuwsche Blauwe; links rij waar 12 door knolenting hiermede besmette Green Mountain planten aan het afsterven of reeds afgestorven zijn, Wageningen, 20 Juli 1929.

„ 8. Bravo met topnecrose, overgenomen van oogenschijnlijk gezonde Eersteling (Oostwold).

„ 9. Bravo met topnecrose van oogenschijnlijk gezonde Green Mountain (Wageningen).

„ 10. Roode Star met topnecrose van oogenschijnlijk gezonde Green Mountain. Men ziet rechts aan de moederknol nog juist het cylindrische gat waar de Eerstelingprop is ingeschoven. (Wageningen).

„ 11. Eersteling met topnecrose van Eigenheimer (tekst p. 25).

„ 12. Eersteling uit Oostwold, gegroeid in een warme kas te Wageningen.

Fig. 13. Stippelstreep: van beneden naar boven: (1) Paul Kruger knol met nog niet bruin geworden blaren, zooals men ze bij het oogsten ziet, (2) iets verder, (3) nog iets verder voortgeschreden stadium, (4) Eersteling met oogziekte, (5) Green Mountain dito (Wageningen).

„ 14. Dezelfde knollen als van fig. 13 doorgesneden in dezelfde volgorde (Wageningen).

„ 15. Knollen van Bravo, lijdende aan topnecrose voortkomende uit Eersteling (Oostwold).

„ 16. Topnecrose voortkomende uit Green Mountain: van beneden naar boven: (1) Paul Kruger, (2) Bravo, (3) Bevelander, (4) Kerr's Pink van het naveleinde, (5) Kerr's Pink van het topeinde gezien (Wageningen).

„ 17. Dezelfde knollen als van fig. 16 doorgesneden in dezelfde volgorde.

„ 18. Topnecrose voortkomende uit Roode Star: (1 en 2 links) Paul Kruger; van beneden naar boven, (3) Industrie, (4) Zeeuwsche Blauwe, (5 en 6) Zaailing van Roode Star, (7) Bintje (Wageningen.

„ 19. Dezelfde knollen als van fig. 18, doorgesneden in dezelfde volgorde.

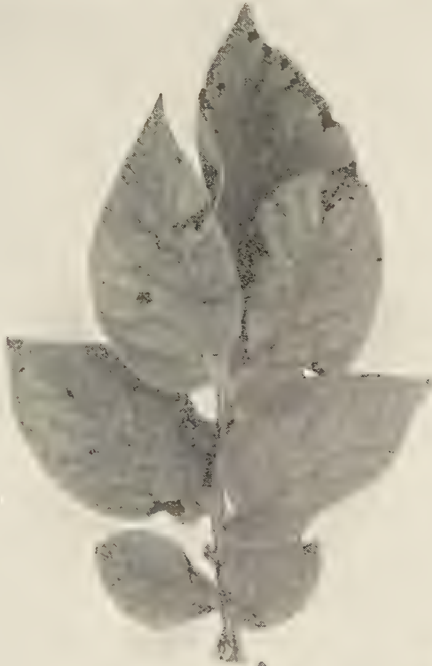


Fig 1

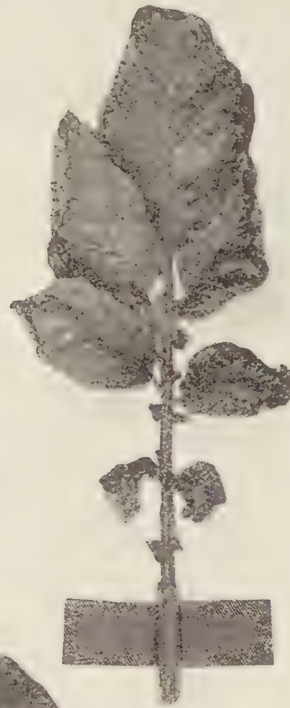


Fig. 2



Fig 3



Fig. 4

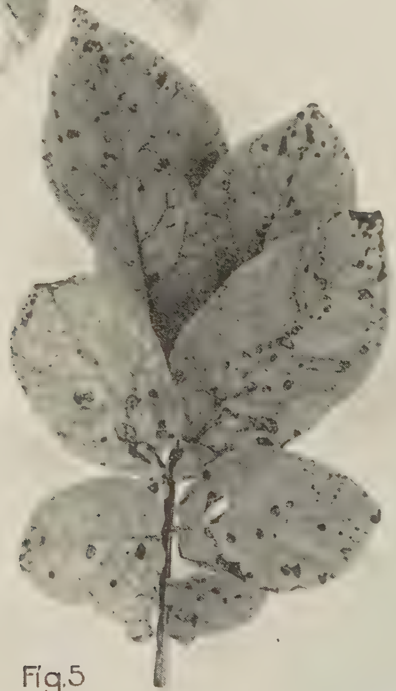


Fig. 5



Fig. 6.



Fig. 7.



Fig. 8



Fig. 9

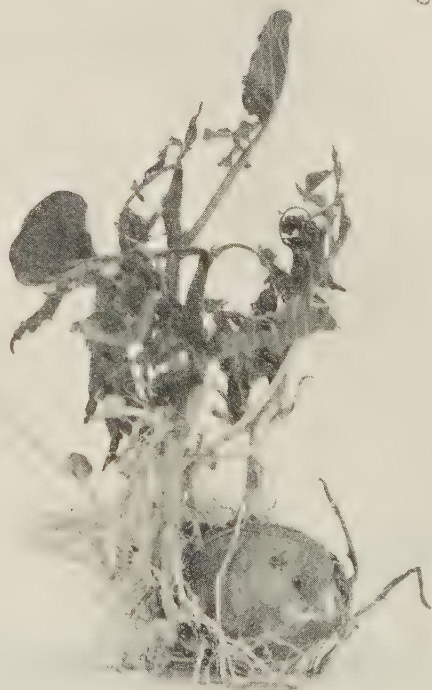


Fig. 10.

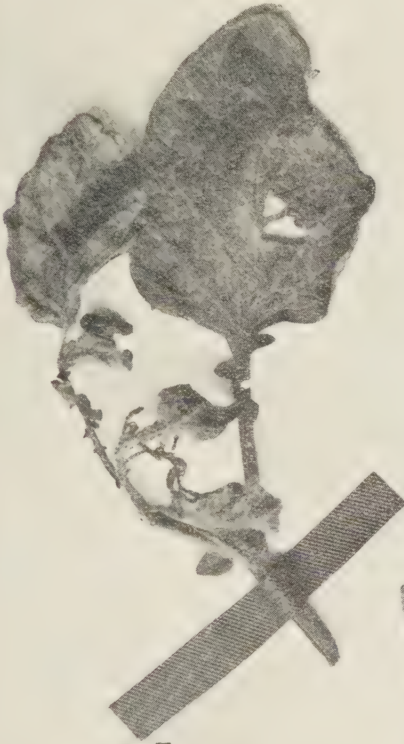


Fig. 11



Fig. 12

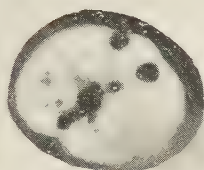
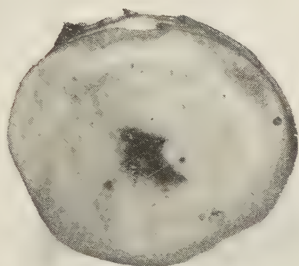
Fig.13



Fig.14



Fig.15

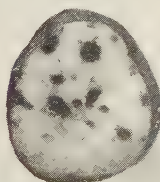
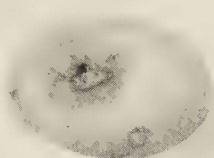



Fig.16





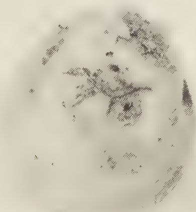
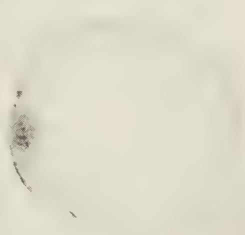
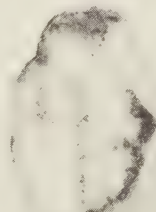
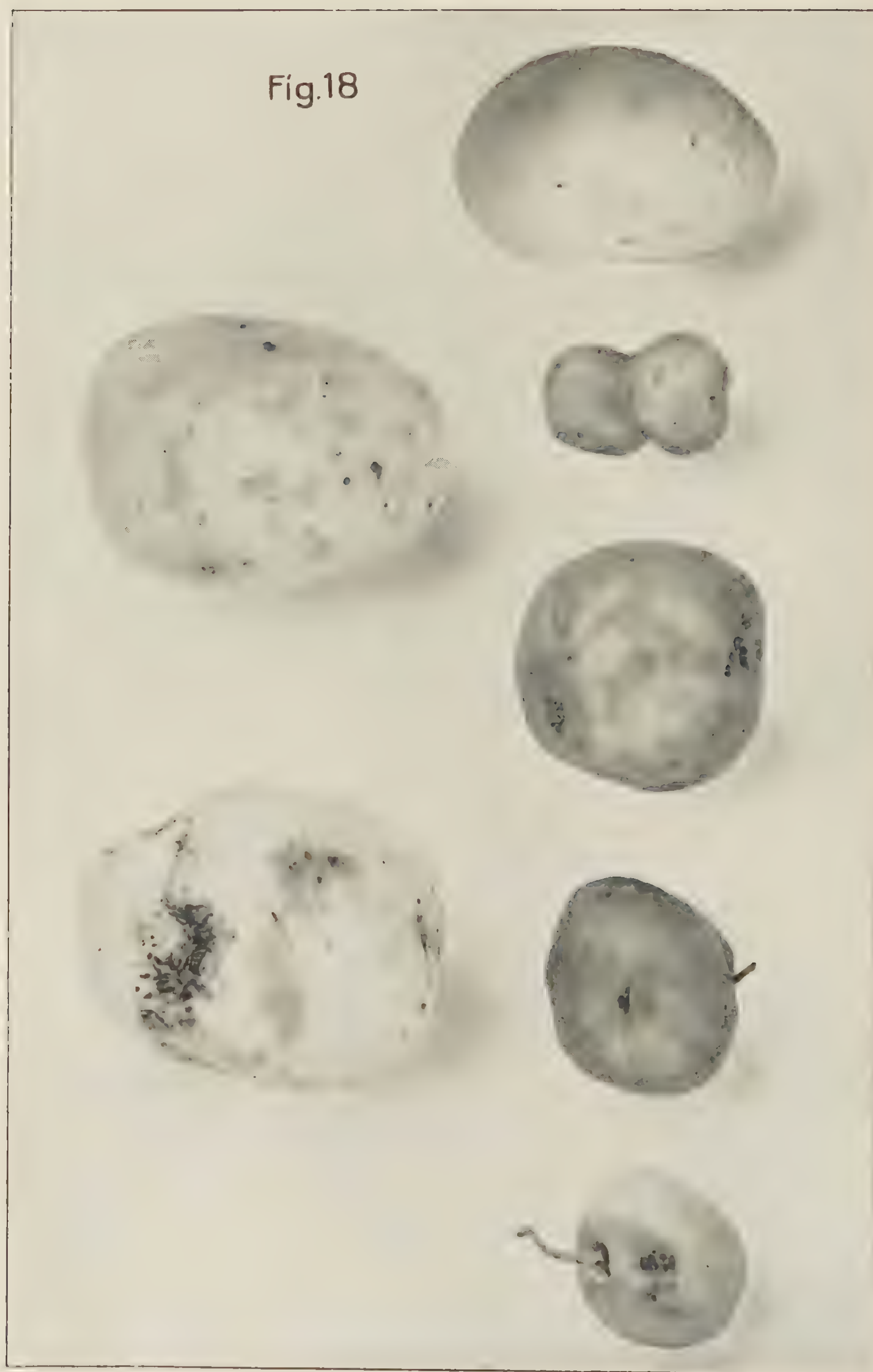
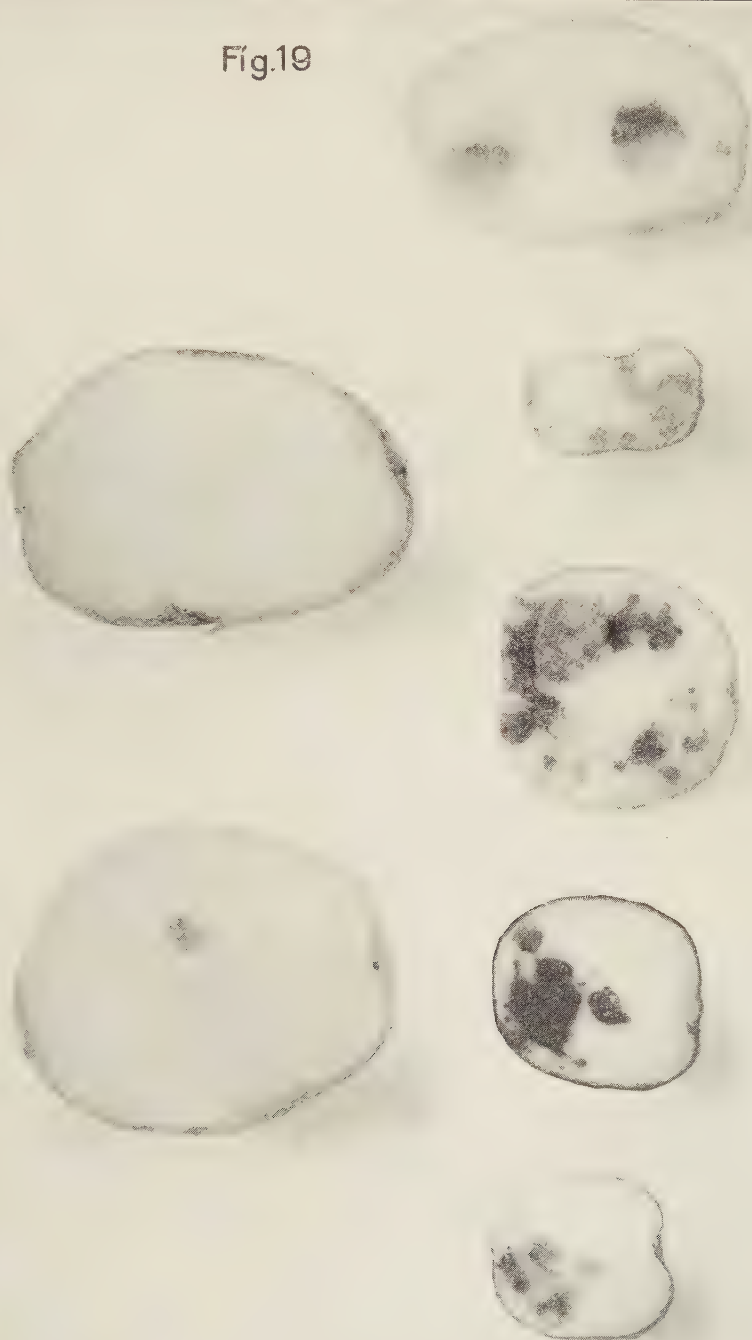


Fig.17


Fig.18


Fig.19

PHLOEEMNECROSE EN NETNECROSE VAN DE AARDAPPEL IN AMERIKA EN EUROPA

(PHLOEMNECROSIS AND NETNECROSIS OF THE POTATO IN AMERICA AND EUROPE)

DOOR

D. L. ELZE EN H. M. QUANJER.

Onder den naam „netnecrose" wordt door de Amerikaansche onderzoekers SCHULTZ en FOLSOM (7) en GILBERT (4) een ziektesymptoom in beeld gebracht, hetwelk in Europa nog niet bekend, althans nog niet beschreven is. Het is een necrose van de phloeemstrengen der knollen van aardappelplanten, welke in den loop van het groeiseizoen met bladrolziekte besmet werden. Men vindt dit symptoom niet meer in de knollen van de volgende vegetatieve generatie. Het is dus een symptoom, dat uitsluitend optreedt bij primair zieke planten. Het wordt beschreven als een fijn net, dat aan de geschilde oppervlakte met het bloote oog waarneembaar is. In oudere Amerikaansche beschrijvingen en afbeeldingen kan men er zich niet een zoo duidelijke voorstelling van maken als uit die van de drie genoemde onderzoekers. Men vindt n.l. in verhandelingen geschreven vóór 1920 afbeeldingen, die vlekjes, inplaats van een net te zien geven, b.v. bij C. R. ORTON (6) of men vindt daar vermeld, dat de ziekte met de poters wordt overgebracht, en dat zij pas laat in den winter optreedt, b.v. bij M. T. COOK (2). Vandaar dat ATANASOFF (1) vlekjes, welke in sommige selecties van Roode Star bij het schillen pas in den winter voor den dag komen en die elk jaar bij de nateelt teruggevonden worden, aanvankelijk ook netnecrose heeft genoemd. De echte netnecrose evenwel geeft een net van lijnen te zien. De vlekjesziekte zal in een volgende verhandeling onder den naam „pseudonetnecrose" worden besproken.

In knollen van Europeesche aardappelplanten, die aan bladrolinfectie waren blootgesteld geweest, is door de schrijvers dezer bladzijden jaren lang gelet op het optreden van symptomen in de geoogste knollen. En vooral nu in de laatste verhandeling van GILBERT de netnecrose zooveel scherper is gedefinieerd, hebben zij hun aandacht hieraan gegeven. Evenwel zonder succes. Nooit vonden zij dit typische net van fijne lijnen in Europeesche soorten. Ook de Iersche onderzoekers MURPHY and MC KAY (5) hebben er te vergeefs naar gezocht. De vraag kan dus worden gesteld of de Amerikaansche bladrolziekte een andere is dan de Europeesche, dan wel of de Amerikaansche soorten op andere wijze op hetzelfde bladrolvirus reageeren. De beantwoording dezer vraag is mogelijk geworden door

toezending door Dr. SCHULTZ en Dr. FERNOW [1]) van aardappels van Amerikaansche soorten, waaronder poters van Green Mountain, die volgens het bijgevoegde etiquet gezond moesten zijn en die ook een aantal oogenschijnlijk gezonde planten voortbrachten. Dat er bij enting met Hollandsche soorten een verborgen ziekte voor den dag kwam, de „topnecrose" die het onderwerp van de voorafgaande verhandeling uitmaakt, doet hier verder niet ter zake, omdat deze ziekte met bladrol niets te maken heeft. Van de beide genoemde collega's werden bovendien poters van bladrolzieke Green Mountain, Rural en Irish Cobler ontvangen.

Door den tweeden schrijver werden z.g. gezonde poters van Green Mountain evenals een aantal knollen van de soorten Paul Kruger, Roode Star en Duke of York (Eersteling) [2]) gepoot naast bladrolzieke aardappels van de soorten Paul Krüger, Bevelander en een zaailing van Roode Star. Gevallen van typisch primair bladrol kwamen op al de aan besmetting blootgestelde soorten voor, zooals te verwachten was. Van de geïnfecteerde planten werden stammen en knollen onderzocht. Phloeemnecrose werd, zooals altijd, in de stengels aangetroffen; maar in de knollen kon bij de drie reeds in Holland bekende soorten geen phloeemnecrose worden geconstateerd; wel echter bij Green Mountain. Bij het wegnemen van de schil zag men bij deze soort het net van fijne bruine lijnen (fig. 1, Pl. 1 beneden). Ook binnen den houtvaatring waren enkele zeefstrengen bruin. Dit is het eerste geval van „netnecrose" bij pas geoogste knollen, dat door de schrijvers is waargenomen.

Het antwoord op de boven gestelde vraag is hiermede gegeven. De Amerikaansche bladrolziekte is dezelfde als de Europeesche en de Green Mountain reageert op een bijzondere wijze op primaire infectie, n.l. door behalve necrose in de zeefstrengen van de stengels, ook necrose in die van de knollen te toonen.

Van de gelegenheid, dat bladrolzieke knollen van de Amerikaansche soorten Green Mountain, Rural en Irish Cobler aanwezig waren, werd door den eersten schrijver gebruik gemaakt om den overgang van bladrol en netnecrose door middel van insecten onder experimenteel beter beheerschte omstandigheden te bestudeeren dan dit bij veldproeven mogelijk is. Ter vergelijking werd tevens een proef ingezet

---

[1]) Aan deze Amerikaansche onderzoekers brengen de schrijvers hier dank voor de toezending.

[2]) Afkomstig van Dr. OORTWIJN BOTJES, die ook telken jare het gezonde materiaal voor vele andere der Wageningsche proeven beschikbaar stelt, en aan wien hier daarvoor dank wordt gebracht.

met de soort Bevelander, aangetast door bladrol van Nederlandsche herkomst. Met deze 4 soorten werd in den zomer van 1928 tegelijkertijd de proef begonnen door ieder uit den aard der zaak in een afzonderlijke goed geïsoleerde ruimte, te poten. Van elke zieke soort werd slechts 1 knol genomen, die echter in twee helften gesneden werd. Daar de proefruimten door middenpaden in tweeën verdeeld waren, werd zoodoende verkregen, dat aan weerszijden tusschen de gezonde planten een ziekmaker stond van geheel gelijke herkomst. In iedere proefruimte bevonden zich bovendien 7 planten van de soort Eersteling (Duke of York), 7 van Roode Star en 8 van Paul Kruger (President), alle afkomstig van Dr. OORTWIJN BOTJES. Voor grootere zekerheid was van te voren een stukje voor contrôle afgesneden en afzonderlijk uitgepoot; bij het snijden werd tevens nauwkeurig gelet op de aanwezigheid van necrotische vlekken in de knol. Geen necrose werd gevonden, evenmin andere ziekten. De gezonde zoowel als de zieke knolstukken waren ieder afzonderlijk in een pot uitgepoot, de 3 gezonde soorten stonden ten opzichte van de zieke planten regelmatig verdeeld. Als ziekteoverbrengers werden gebruikt in de proef met de soort Bevelander de bladluis *Aphis rhamni* BOYER de FONSC., in die met Green Mountain, de bladluis *Myzus persicae* SULZ., in die met Rural, de bladluis *Aphis fabae* SCOP., in die met Irish Cobler de aardappelaardvloo *Psylliodes affinis* PAYK. Dat verschillende insecten werden gebruikt, geschiedde omdat bij deze proefserie ook de beantwoording werd gezocht van nog enkele andere vragen; in een afzonderlijke verhandeling zal daarop worden teruggekomen. Met het oog op de hier behandelde vraag werd A. rhamni gekozen voor Bevelander, omdat uit vroeger werk (ELZE(3)), genoegzaam bekend is, dat deze luis bladrol in voldoende mate overbrengt om goed vergelijkbaar materiaal te verkrijgen. Voor Green Mountain werd M.persicae genomen, daar ook in Amerika deze luis bij de verspreiding een hoofdrol speelt en men de onderzoekingen over netnecrose voornamelijk met Green Mountain heeft gedaan. Wat de overgang van bladrol betreft, deze werd beoordeeld aan de nateelt. Het resultaat is in de hieronder volgende tabel 1 weergegeven.

Het blijkt, dat in alle gevallen bladrol in voldoende mate is overgegaan. In Maart, kort voor het poten, zijn alle knollen gesneden aan het naveleinde, omdat daar volgens de Amerikaansche onderzoekers de netnecrose het duidelijkst is. In geen enkel geval konden necrotische verschijnselen, hoe zwak ook, geconstateerd worden, zoodat ook in

deze proef bleek, dat bij de genoemde Nederlandsche soorten netnecrose geen kenmerk is van primair bladrol.

TABEL 1.

Ziekmaker diseased tuber	Insekt.	Aantal stammen ziek in nateelt number of sets diseased in the progeny		
		Eersteling Duke of York.	Roode Star Red Star.	Paul Kruger President.
Bevelander	Aphis Rhamni	4	5	4
Green Mountain	Myzus persicae	7	7	8
Rural	Aphis fabae	1	3	4
Irish Cobler	Psylliodes affinis	2		3

Op het gebied der natuurwetenschap geeft elke beantwoording eener vraag weer tot nieuwe vragen aanleiding. Hoe komt het, dat de phloeemnecrose in de onderaardsche deelen van Green Mountain verder doordringt bij primair aangetaste planten dan bij planten met den secundairen vorm der ziekte? Voorloopig kan hier het antwoord nog niet op worden gegeven. Wel kan hier melding gemaakt worden van een proef, van den tweeden schrijver, die wellicht voor het verder doordringen op dit gebied waarde kan hebben. Zij wordt hier echter alleen vermeld, omdat er uit blijkt, dat het toch gelukt is om ook bij bladrolzieke knollen van Europeesche aardappelsoorten de phloeemnecrose zichtbaar te maken.

Te dien einde moet men die knollen als stengel laten functioneeren. Gezonde en bladrolzieke knollen van de soorten Bevelander en Koh I Nohr, werden gepoot met het naveleind in en het krooneind boven den grond. De spruiten aan het boveneind blijven eenigen tijd kort en dik; slechts kleine wortelstompjes werden er op zichtbaar. Uit de onderste oogen had echter een sterke spruitvorming plaats, maar hiervan werd alles weggenomen wat zich boven den grond vertoonde. Aan de onderste spruiten konden zich nu slechts wortels ontwikkelen, en zoodra deze de moederknol rijkelijk van water gingen voorzien, begonnen de topspruiten door te schieten. De moederknol functioneerde nu als stengel (fig. 2, Pl. 2 en fig. 3, Pl. 1 boven). Cellen, welke zich tusschen haar xyleemring en uitwendig phloeem bevonden, gingen zich als cambiumcellen gedragen. Zoodra de intusschen ontplooide bladeren een surplus aan assimilaten begonnen af te voeren, vertoonde zich overal in de stengels cambiumwerkzaamheid; zoowel in als tusschen de vaatbundels vormde zich naar buiten secundaire bast en naar binnen

secundair hout, zoodat een gesloten ring ontstond. Ook in de moederknol was de cambiumwerkzaamheid nu in gang in de vaatbundels, welke de verbinding van de wortels met de stengels tot stand brachten; tusschen de vaatbundels was de cambiumwerkzaamheid zoo goed als niet waarneembaar. In de moederknol ontstonden dus houtige strooken, inplaats van een volledigen houtcylinder; buiten deze strooken ontstonden strooken van secundaire bast. Aan den buitenkant van deze strooken nu kon men de primaire zeefstrengen nog terugvinden. Duidelijk kon worden gezien, dat deze zeefstrengen bij de gezonde planten niet, bij de zieke planten wel necrotisch waren. Ook de zeefstrengen binnen het xyleem waren, voorzoover ze nog teruggevonden konden worden, bij de gezonde planten gaaf, bij de zieke planten toonden zij necrose.

PHLOEMNECROSIS AND NETNECROSIS OF THE POTATO IN AMERICA AND EUROPE.

In Dutch potato varieties suffering from leafroll phloemnecrosis occurs only in the veins and stalks, but in American varieties it occurs also as a first season tuber symptom (netnecrosis Schultz, Folsom, Gilbert); this fact raises the question of the identity of the disease in the two countries.

Apparently healthy tubers of Green Mountain and of certain Dutch varieties were planted alongside diseased tubers of Dutch origin. Symptoms of primary leafroll developed in the plants exposed to infection. In those belonging to Dutch varieties phloemnecrosis was found, only in veins and stalks, whereas in Green Mountain the new tubers also showed phloemnecrosis. This was the first case of netnecrosis observed by the authors (fig. 1).

American leafroll has been transmitted by the insects mentioned on page 6 from diseased Green Mountain, Rural and Irish Cobler, received from the States, to the varieties, Duke of York, Red Star and Paul Kruger (President), in which phloemnecrosis was brought about only in the foliage and not in the tubers. This would seem to prove the identity of leafroll at both sides of the Atlantic.

The American material for these experiments was received through the courtesy of Dr. Schultz and Dr. Fernow.

An experiment has been made to induce phloemnecrosis in leafroll tubers of Dutch varieties by allowing buds of the rose end to grow out into rootless shoots, and buds ot the heel end to form roots and tuber bearing stolons; in the mother tuber, functioning as stalk (fig. 2 and 3), secondary xylem and phloem develop, and in the primary phloem strands necrosis could indeed be observed.

LITERATUUR.

1. ATANASOFF, D. 1926. Netnecrosis of potato. Phytopathology, Vol. 16, No. 12, p. 929.

2. COCK, M. T. 1919. Potato diseases in New Jersey. N. J. Agr. Exp St. circ. 105.

3. ELZE, D. L. 1927. De verspreiding van virusziekten van de aardappel (Solanum tuberosum L.) door insecten. Med. v. d. Landbouwhoogeschool 32.

4. GILBERT, A. H. 1928. Netnecrosis of Irish potato tubers. Bul. Vermont Agric. Exp. Station, No. 289.

5. MURPHY, P. A. and MC KAY, R. 1924. Investigations on the leafroll and mosaic diseases of the potato. Journ. Dep. Agric. and Techn. Instruction Ireland XXIII, p. 344.

6. ORTON, C. R. 1916. Potato diseases. Pennsylvania State Coll. Bull. 140.

7. SCHULTZ, E. S. and FOLSOM, D. 1921. Leafroll, netnecrosis and spindling sprout of the Irish potato. Journ. Agr. Res. 21, p. 47.

FIGUREN.

Fig. 1. (Pl. 1. beneden.) „Netnecrose" in Green Mountain, die besmet was met bladrol van een naburige zaailing van Roode Star.

„ 2. (Pl. 2.) Aardappelplant van welke de moederknol als stengelbasis functioneert; uit de onderste oogen ontspringen de wortels en stolonen, waaraan een groote en eenige kleine jonge knollen gegroeid zijn.

„ 3. (Pl. 1. boven.) Gedeelte van de vorige figuur vergroot. De bovenste knol is de moederknol.

FIGURES.

Fig. 1. (Pl. 1. below.) „Netnecrosis" in Green Mountain, contaminated with leafroll of a neighbouring seedling of Red Star.

„ 2. (Pl. 2.) Potatoplant, the mother tuber functions as stem; from the eyes at the heel end roots and stolons have developed, the latter bearing one big and four small tubers.

„ 3. (Pl. 1. above.) Detail of fig. 2. The upper tuber is the mother tuber.

PLAAT 1.



PLAAT 2.



„PSEUDONETNECROSE" VAN DE AARDAPPEL

(PSEUDONETNECROSIS OF THE POTATO)

DOOR

H. M. QUANJER, T. H. THUNG EN D. L. ELZE.

„Pseudonetnecrose" is een ziekte, die eerst vrij laat, gedurende den bewaartijd bij het schillen als donkere vlekjes voor den dag komt. Zij gaat met de knollen geregeld op het nageslacht over. Zij gaat niet gepaard met symptomen in het loof.

Men heeft niet direct haar juiste beteekenis begrepen. DORST (3) heeft haar aangezien voor „kringerigheid" of „vuur". De echte kringerigheid gaat echter van den grond uit op de knollen over en komt niet door de moederknol in de plant. Later heeft FRUWIRTH een dergelijk verschijnsel beschreven als „erbliche Eisenfleckigkeit" (4). Het kwam voor bij de vegetatieve nakomelingen van een der zaailingen van Industrie x Bellona en bij enkele der zaailingen van Deodara x Gratiola. Daar deze onderzoeker het materiaal heeft opgeruimd kon de indruk, dat men hier met dezelfde ziekte te doen heeft, niet door nader onderzoek bevestigd worden.

Deze ziekte is gekenmerkt door optreden bij de bewaarde aardappels van talrijke kleine necrotische plekjes, binnen en buiten den houtvaatring (fig. 1 en 2). Bij de soort Paul Kruger en de Poolsche soort Topas komen zij zoo dicht aan de oppervlakte, dat plaatselijk ook de schil necrotisch wordt (fig. 3 en 4). De ziekte lijkt dan op die, welke Mej. DE BRUYN (2) beschrijft voor aardappelen van sommige variëteiten, die rijkelijk met stikstof en onvoldoende met kali bemest zijn.

Een net bestaande uit fijne bruine lijnen — afgestorven zeefstrengen — is niet kenmerkend voor deze ziekte. Hierop wordt gewezen, omdat zij door ATANASOFF (1) verward werd met de „netnecrose", waartoe oudere afbeeldingen van netnecrose, b.v. die van C. R. ORTON (5) aanleiding gaven. In het vorige stuk in dit tijdschrift is uitvoeriger geschreven over deze Amerikaansche ziekte, die niets anders is dan phloeemnecrose, zich alleen openbaart bij de knollen van primair door bladrol aangetaste Green Mountain planten en als symptoom der knollen bij de voortplanting niet terugkomt.

Dat deze verwarring heeft plaats gehad en dat de naam netnecrose reeds — ten onrechte — voor de Europeesche ziekte gebruikt werd, is voor den eersten schrijver aanleiding om den naam „pseudonetnecrose" in te voeren.

De Europeesche pseudonetnecrose komt, in tegenstelling met de Amerikaansche netnecrose, geregeld bij de voortplanting terug; zij zetelt niet in de phloeemstrengen maar in het phloeemparenchym.

DORST ontdekte de ziekte bij bepaalde selecties van Roode Star met een donkergroen looftype. Deze planten waren niet vrij van aucubabont. Ook in Zeeland, in Wageningen en in Oostwold zijn deze planten naverbouwd. Daar zij, afgezien van wat aucubabont, donkergroen en vrij van mozaiek waren, daar bovendien de necrose in de knollen meestal pas laat in den winter zich openbaarde en tot klachten aanleiding gaf, had de ziekte reeds eenige uitbreiding verkregen voordat men het gevaar, dat aan verderen verbouw verbonden was, inzag.

Roode Star planten van dit donkergroene type zijn het, die aan ATANASOFF en ook aan de schrijvers als uitgangsmateriaal dienden voor talrijke proeven.

Intusschen was reeds in 1926 twijfel gerezen aan de juistheid van ATANASOFF's later in „Phytopathology" (1) gepubliceerde meening, dat deze necrose en aucubabont bij elkaar zouden behooren, en wel naar aanleiding van bezoeken van de Heeren A. MILLAR en T. P. MC INTOSH [1]) inspecteurs van den Schotschen Board of Agriculture, die wel het aucubabont en niet de necrose kenden en deze laatste ziekte ook niet vonden in de knollen van aucubazieke planten, die zij in den winter van 1925—'26 onderzochten. Zendingen uit Ierland van Dr. MURPHY [1]) bestaande uit poters van Sutton's Early Regent en uit de Vereenigde Staten van Dr. SCHULTZ [1]) van de soort Green Mountain, die beide wel aucubabont bevatten en vrij waren van de necrose, brachten bevestiging van de meening der Schotten. De beide eerste schrijvers hebben in het einde van den winter 1925—'26 en volgende winters alle aardappels der proefvelden van het laboratorium te Wageningen onderzocht en verschillende soorten gevonden, die aan aucubabont en niet aan pseudonetnecrose leden. Als zoodanig kunnen genoemd worden behalve Early Regent, de Nederlandsche soorten Thorbecke, Roode Star en Triumph en de Fransche soort Institut de Beauvais. Bij voortteling in de jaren 1926 en '27 bleek, dat het aucubabont in het nageslacht weer optrad, maar dat de knollen vrij van netnecrose bleven. Bij overenting op necrosevrije Roode Star bleek, dat de planten der vijf genoemde soorten ook geen „carriers" van pseudonetnecrose waren.

---

[1]) Aan de Heeren MILLAR, MC. INTOSH, MURPHY an SCHULTZ wordt hier dank gebracht voor hun mededeelingen en zendingen.

Dit onderzoek werd bevestigd door de volgende proef van Dr. OORTWIJN BOTJES.[1]) Hij vond in 1926 Alpha planten met aucubabont zonder necrose. Knolentingen werden verricht op Roode Star zonder necrose en aucubabont, tengevolge waarvan de tweede ziekte op sommige Roode Star planten overging; zij bleven echter vrij van pseudonetnecrose.

Het besmettelijk karakter der ziekte is verder gebleken uit het feit, dat gezonde planten te Wageningen in 1928 gegroeid naast zieke, geïnfecteerd werden, terwijl gezonde planten gegroeid te midden van gezonde en op eenige meters afstand van zieke niet werden geïnfecteerd. Geheel op dezelfde wijze als in het artikel over de netnecrose is beschreven, heeft de laatstgenoemde schrijver ook een proef uitgevoerd met een sterk door pseudonetnecrose aangetaste knol van de soort Roode Star. Als overbrenger diende *Myzus persicae* SULZ. Het resultaat was, dat slechts 2 planten knollen met pseudonetnecrose opleverden, beide van de soort Eersteling (Duke of York). De symptomen waren echter zoo duidelijk, dat het moeilijk valt, dit niet als een positief resultaat te beschouwen. Het is trouwens niet uitgesloten, dat voor pseudonetnecrose de bladluis *Myzus persicae* niet het meest geëigende insect is om als overbrenger te dienen. Het feit, dat de ziekte door luizen is overgebracht, versterkt de waarschijnlijkheid, dat pseudonetnecrose tot de groep der virusziekten behoort. Opmerkelijk is het, dat dezelfde knollen, die pseudonetnecrose vertoonden, planten opleverden met duidelijk aucubabont; de ziekmaker kwam dan ook uit een partij, waarin naast pseudonetnecrose zeer veel aucubabont was aangetoond, hoewel de symptonen in de plant, die de hier gebruikte knol had voortgebracht, niet zichtbaar waren.

De eerste schrijver heeft getracht van veertien Nederlandsche aardappelsoorten, door ze in 1928 in rijen te poten tusschen rijen van zieke Roode Star, de vatbaarheid te bepalen. Sterk vatbaar bleken te zijn Roode Star en Paul Kruger. Minder sterk kwamen de symptomen voor den dag in Eigenheimer, Thorbecke en Industrie; geen symptonen traden op in de soorten Eersteling, May Queen, Bintje, Bravo, Triumph, Monocraat, Bevelander, Zeeuwsche Blauwe en Alpha. Het is niet onmogelijk, dat een of meer der soorten, waarin de ziekte niet geconstateerd kon worden, toch besmet zijn geweest, want Eersteling was er ook bij en deze soort is niet onvatbaar. Dit geeft aanleiding tot twee vragen: Kan men het optreden der symptomen bevorderen? En:

---

[1]) Dr. OORTWIJN BOTJES was zoo welwillend den schrijvers dit geval te berichten, waarvoor hem hier dank wordt gebracht.

is het mogelijk, dat van aardappels uit een besmette omgeving, die in 't eind van den winter nog geen necrose doen zien, besmetting uitgaat? Zij zouden zich dan als „carrier" gedragen.

De eerste schrijver heeft getracht het optreden der ziektesymptomen door bewaring bij hoogere temperatuur te bespoedigen. De volgende tabel geeft een denkbeeld van de toeneming der necrose gedurende de bewaring in den winter bij in 1928 op zandgrond en op kleigrond geoogste zieke Roode Star. Deze twee partijen aardappels waren gepoot op 13 April, gerooid op 25, 26 en 27 Sept. en bewaard bij een temperatuur, die van ± 12° in October daalde tot ± 4° in December. Op 28 Dec. werden in enkele knollen zwakke symptomen gevonden. Op dien datum zijn de beide partijen elk in drieën verdeeld en de aldus verkregen groepen bij drie verschillende constante temperaturen bewaard. De zieke zijn hieronder in percenten vermeld.

TABEL 1.

Onderzoek op investigation on	10° C		15° C		20° C	
	zand sand	klei clay	zand sand	klei clay	zand sand	klei clay
7 Jan. 1929 . . .	14 %	9 %	15 %	11 %	19 %	12 %
17 Jan. „ . . .	26 %	21 %	51 %	18 %	59 %	51 %
31 Jan. „ . . .	23 %	22 %	76 %	46 %	66 %	58 %
27 Febr. „ . . .	26 %	25 %	90 %	64 %	88 %	75 %

Het is mogelijk, dat enkele soorten ten opzichte van pseudonetnecrose zich meer of minder als „carrier" kunnen gedragen. De tweede schrijver entte in den winter 1925—'26 knolstukken van Monocraatplanten, die niet aan aucubabont leden en waarin 4 pct. pseudonetnecrose voorkwam met knollen van Thorbecke en Roode Star, die vrij van deze ziekten waren. In de planten, die uit de geënte knollen opgroeiden en de knollen daarvan werd gevonden bij Thorbecke 100 pct. aucubabont en 8 pct. pseudonetnecrose; bij Roode Star 50 pct. aucubabont en 15 pct. pseudonetnecrose. In de nateelt van deze Monocraatplanten werden de beide ziekten niet gevonden, maar een nieuwe enting in den winter van 1926—'27 leverde bij Paul Krüger 10 pct. aucubabont en 30 pct. netnecrose op. Deze Monocraat bevat blijkbaar beide vira, maar reageert er niet of in geringe mate op; misschien zou de ziekte er in zijn opgetreden als de bewaring bij hooger temperatuur had plaats gehad.

Daar men de pseudonetnecrose niet aan kenmerken in het loof kan onderscheiden maar pas vrij laat in den winter bij het doorsnijden, is zij moeilijk te bestrijden. Men zal goed doen partijen aardappelen, waarin zij voorkomt niet als pootgoed te gebruiken. Beproefd kan worden uit partijen, waar zij nog maar in geringe mate in voorkomt, door snijden en selecteeren vóór het poten een aantal gezonde planten te krijgen, de opbrengst van elk afzonderlijk het volgend jaar voor het poten te controleeren en de stammen, welke gezond gebleven zijn, afzonderlijk te vermeerderen. Inderdaad is aldus uit een partij Eigenheimer, waarin de ziekte tot een percentage van 30 voorkwam, in den tijd van 3 jaar een ziektevrije partij door den tweeden schrijver gekweekt.

„PSEUDONETNECROSIS" OF THE POTATO.

In some strains of the variety Red Star an internal parenchyma necrosis is found as numerous brown spots both inside and outside of the xylem-ring; this is transmitted by seed tubers to the progeny. It infects neighbouring plants in the field and has been transmitted by the aphid *Myzus persicae* from Red Star to Duke of York.

No foliage symptoms are combined with it. ATANASOFF, comparing it with some of the earlier figures of „netnecrosis" (c.p. C. R. ORTON, 1916) identified it with this American disease, and, finding it in potato plants which were also infected with aucuba-mosaic, considered it as a tuber symptom of this disease. Through the courtesy of Dr. MURPHY, Suttons Early Regent was received with aucuba mosaic but free from pseudonetnecrosis; it has later been found by the present authors in several potato varieties which were free from aucuba-mosaic. It develops during storage, the development being accelerated by any rise of temperature (c. p. Table 1 p. 6). Potato varieties differ in susceptibility, Paul Krüger (President) being very susceptible and showing the necrotic spots on the outside of the skin.

A similar disease has been described by FRUWIRTH as „erbliche Eisenfleckigkeit" in Austrian seedling varieties. On account of its late development the transmission by the seed may escape attention.

LITERATUUR.

1. ATANASOFF, D. 1926. Netnecrosis of potato. Phytopathology, Vol. 16, p. 929.
2. DE BRUYN, H. L. G. 1929. Het blauw worden van aardappelen (Blue discoloration of potatoes). Tijdschr. Plantenziekten XXXV, p. 185.
3. DORST, J. C. 1924. Knopmutatie bij den aardappel. Genetica VI, p. 1.
4. FRUWIRTH, 1929. Vererbliche Eisenfleckigkeit bei Kartoffeln. Deutsche Landw. Presse LXI, N°. 2, 12 Jan.
5. ORTON, C. R. 1916. Potato diseases. Pennsylvania State Coll. Bull. 140.

VERKLARING DER FIGUREN.

Bij alle afbeeldingen bevindt zich het naveleinde der knollen aan den onderkant.

„Pseudonetnecrose".

Fig. 1 en 2 in Roode Star. Hier blijft de ziekte inwendig.

„ 3 en 4 in Paul Kruger. Hier is zij ook van buiten zichtbaar.

„ 5. Industrie besmet door naburige Roode Star.

„ 6. Thorbecke „ „ „ „ „.

„ 7. Eigenheimer „ „ „ „ „.

EXPLANATION OF FIGURES.

In all the figures the heel end of the tubers is turned down.

„Pseudonetnecrosis".

Fig. 1 and 2 in Red Star. Necrotic spots in the interior.

„ 3 and 4 in Paul Kruger. Necrotic spots visible from outside.

„ 5. Industrie contaminated through neighbouring Red Star.

„ 6. Thorbecke „ „ „ „ „.

„ 7. Eigenheimer „ „ „ „ „.


Fig.1

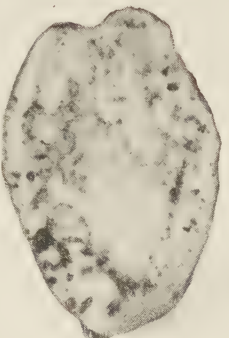
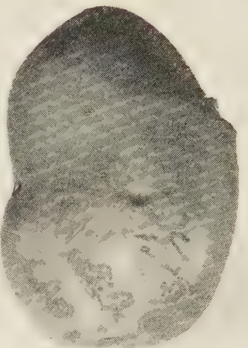

Fig.2


Fig.3


Fig.4

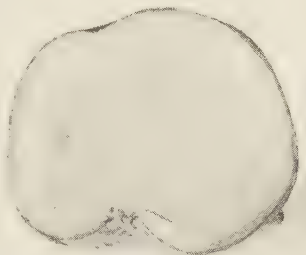
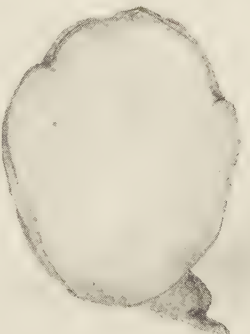

Fig.5


Fig.6


Fig.7

MICROSCOPISCH ONDERZOEK VAN PSEUDONETNECROSE EN KRINGERIGHEID VAN DE AARDAPPEL

(MICROSCOPICAL INVESTIGATION OF PSEUDONETNECROSIS AND KRINGERIGHEID OF THE POTATO)

DOOR

L. C. P. KERLING

VROEGER TE WAGENINGEN, HOLLAND
NU TE DJOKJAKARTA, JAVA.

INLEIDING.

Eenige niets zeggende namen zijn in het buitenland gebruikt om necrose-verschijnselen in aardappelen aan te duiden: „Eisenfleckigkeit", „internal brown spot", „internal rust spot". Niets zeggend, omdat zij geen omschrijving geven van de symptomen, noch eenige aanduiding bevatten omtrent de ziekteoorzaak. SYDNEY BURR (4) schrijft de verwarring, die op dit gebied bestaat, toe aan het verwaarloozen van de anatomie als hulpmiddel bij het beschrijven van deze ziekten, maar zijn meening moet berusten op onbekendheid met de Nederlandsche literatuur. Reeds in 1907 heeft SWELLENGREBEL (17), niet minder nauwkeurig dan SYDNEY BURR, afwijkingen in de structuur bij een der veel voorkomende ziekten van dit type, de „kringerigheid", nagegaan. Volgens macroscopische symptomen is deze ziekte identiek met PETHYBRIDGE's „Sprain" (11), APPEL's „Pfropfenbildung" (1) en PAPE's „Korkringigkeit" (10). QUANJER heeft in zijn verhandelingen over deze zelfde „kringerigheid" (13) en over door *Tylenchus dipsaci* beschadigde aardappel (14) aangetoond, dat het parenchymweefsel der knollen op precies dezelfde wijze reageert op de meest verschillende beschadigingen b.v. op aantasting door *Phytophthora infestans*, zelfs op het prikken met een steriele naald. Bevestiging hiervan kan men vinden in verhandelingen van LÖHNIS (9), die de Phytophthoraziekte bestudeerde, van SCHWARTZ (16), die zich op Java bezighield met de studie der roestvlekkenziekte („rusty spot disease") en van DE BRUYN (3), waar zij schrijft over de necrotische plekken, welke optreden in aardappelen, die sterk met stikstof en onvoldoende met kali bemest zijn. In al deze gevallen ziet men necrotische celgroepen, waaromheen een wondreactie optreedt zooals zij is beschreven door PRIESTLEY en WOFFENDEN (12).

Het doel van dit onderzoek nu, is na te gaan, of het ziektebeeld van de pas in dit tijdschrift door QUANJER, THUNG en ELZE (12) beschreven pseudonetnecrose, en dat van de kringerigheid, die makroskopisch zeer goed van elkaar te onderscheiden zijn, mikroskopisch al of niet duidelijke verschillen vertoonen. Men is a priori geneigd wel degelijk een verschil te verwachten waar de pseudonetnecrose door een virus veroorzaakt wordt, dat van de moederknol via de plant op de dochterknollen overgaat, en de kringerigheid, van welke ziekte men de oorzaak nog niet kent, van den grond uit de knollen besmet, maar

niet van de moederknol op de dochterknollen overgaat (QUANJER 13). Er zijn echter vele gevallen bekend, waarin door geheel verschillende oorzaken ziektebeelden ontstaan, die makroskopisch duidelijk van elkaar te onderscheiden zijn, doch mikroskopisch nauwelijks verschillen. Zoo waren de door mij onderzochte door vallende waterdruppels teweeggebrachte vlekken op perzikbladeren makroskopisch duidelijk te onderscheiden van de, op dezelfde bladeren door *Clasterosporium carpophilum* (Lév). Aderh. veroorzaakte vlekken. Mikroskopisch vertoonde het reactieweefsel echter geen verschil. De plant reageert dan op een haar eigen wijze op een invloed van buiten af, onverschillig welke deze invloed is, doch eenigszins variëerend met de manier, waarop hij zich doet gelden (KERLING, 7).

Alvorens tot de mikroskopische beschouwing over te gaan, is het noodig de beide ziektebeelden makroskopisch te beschrijven. Voor het onderzoek werden aardappels van de variëteit Roode Star met pseudonetnecrose, afkomstig van kleigrond, en aardappels van de variëteit Eigenheimer met kringerigheid, afkomstig van zandgrond, gebruikt.

Makroskopie.

„Pseudonetnecrose". Zooals in het vorig artikel in dit tijdschrift werd uiteengezet, verwarde ATANASOFF (2) deze ziekte met de Amerikaansche netnecrose. De Roode Star aardappels met pseudonetnecrose vertoonen echter een beeld geheel afwijkend van hetgeen GILBERT (5) beschreef als „netnecrosis". Terwijl bij deze ziekte de phloëemstrengen aangetast worden, zoodat men een net van bruine lijnen ziet, bevinden zich bij de pseudonetnecrose bruine plekken voornamelijk in de schors, en soms ook binnen de houtvaatring. Dicht bij het kurk bevinden zich onregelmatige bruine stippen of plekken, soms 2 à 3 mm. groot, in het midden donker en naar de randen toe lichter uitvloeiend; aan deze randen vertoont zich een fijn bruin netwerk. Bij uitdrogen wordt het centrum korrelig. Het parenchym om de vlek is doorschijnender dan elders en soms iets donkerder getint. Voor photographische afbeeldingen wordt naar de aan dit artikel voorafgaande verhandeling verwezen.

„Kringerigheid". Het verschijnsel van kringerigheid is reeds beschreven en afgebeeld door SWELLENGREBEL (17). Opgemerkt zij, dat de z.g. „kringen" in werkelijkheid bollen zijn met een punt ergens aan de oppervlakte, soms een lenticel, als middelpunt, hetgeen blijkt bij doorsnijden van de knol in verschillende richtingen. Bij de onderzochte Eigenheimers zijn de „kringen" echter niet altijd „fijn en

typisch", zooals QUANJER opmerkt, doch vaak zijn ze tot enkele mm. dik. De fijne kringen bestaan uit lichtbruin gekleurde punten; soms zijn ze donkerder en begrensd door een doorzichtige zône. De breede kringen bestaan uit een donkere korrelige massa, begrensd door een ± 2 mm. breede, doorschijnende zône. Waar de kringen afgebroken zijn, omringt de zône elk gedeelte afzonderlijk. Soms treden scheuren op, wanneer, bij wegvallen van de korrelige massa, het aan den eenen kant aangrenzend gedeelte der zône loslaat van het aan den anderen kant aangrenzend gedeelte.

Mikroskopie.

Techniek. Voor het onderzoek werd versch materiaal gebruikt. Enkele knollen werden gefixeerd in ½ à ¾ %ige chroomzuuroplossing gedurende 36 uur, daarna gedurende 2 dagen gespoeld en vervolgens bewaard in 96 %ige alcohol. Waar van dit materiaal gebruik is gemaakt, zal dit vermeld worden.

„Pseudonetnecrose". Bij de pseudonetnecrose blijken de aantastingen steeds in het parenchym voor te komen; soms liggen

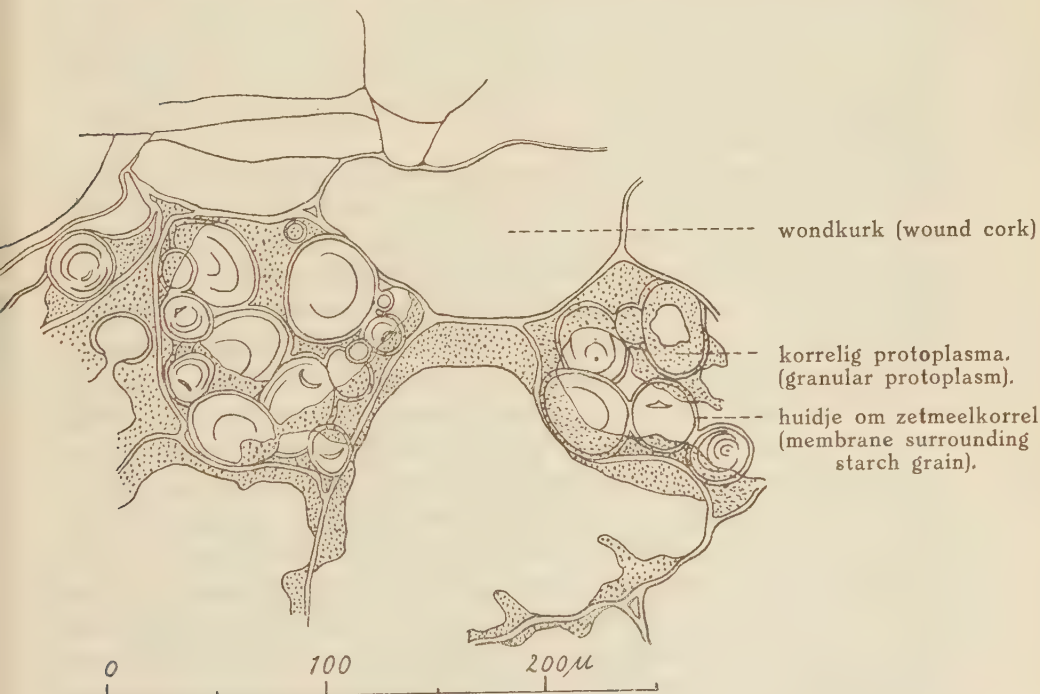


Fig. 1. Pseudonetnecrose bij „Roode Star".
Naar een praeparaat gekleurd met Soedan III.

zieke cellen tegen phloeemstrengen aan. Bij sterker uitbreiding ontstaan groote complexen van doode cellen, die de vaatbundelelementen tusschen zich in sluiten. Pas aangetaste cellen liggen meestal geïsoleerd in het gezonde weefsel. Door verlies van de turgor buigt de celwand, die de oorspronkelijke dikte en kleur nog behouden heeft, zich onregelmatig om de zetmeelkorrels, die zich in het cellumen bevinden. (Fig. 1).

De celkern krijgt een onregelmatige omtrek, het protoplasma wordt korrelig en kleurt zich geel, vooral om de zetmeelkorrels. Hier maakt de korrelige structuur plaats voor een hyaline; de korrels worden door een $\pm$ 1 μ dik huidje omgeven, waardoor zij op hun plaats in het cellumen gehouden worden. Door de aanwezigheid van zetmeel zijn de zieke plaatsen in dunne coupes zeer opvallend, want bij het snijden vallen de korrels meestal uit de normale cellen, waarin dan alleen nog weinig kleurloos protoplasma achterblijft. De gezonde cellen, die de zieke omringen, drukken de laatste samen, voorzoover de zetmeelkorrels het toelaten.

Bij oudere aantastingen liggen meestal meer zieke cellen bij elkaar; zij vormen het makroskopisch zichtbare bruine netwerk in het parenchym. De celwanden zijn geel gekleurd, de cellen sterk samengedrukt, waarbij de zetmeelkorrels opééngehoopt komen te liggen. De naburige cellen liggen nu duidelijk straalsgewijs om de aangetaste gerangschikt; in enkele treedt een tangentieele deelingswand op, dicht bij de aangetaste cellen geplaatst.

Ten slotte worden aaneengesloten celcomplexen aangetast; de aan de rand liggende cellen vertoonen het bovenbeschreven beeld. De elementen van een vaatbundel blijven steeds gezond. De naburige cellen dringen zoover in het zieke complex binnen, dat de zieke cellen nog slechts als smalle uitloopers tusschen het reactieweefsel te vinden zijn, of zich als een bruine massa er binnen bevinden. Door samenvouwen van de celwanden zijn de intercellulairen meestal verdwenen, soms zijn zij nog aanwezig tusschen de aangetaste cellen en die van het wondweefsel. De zieke cellen hebben donkerbruine, onregelmatig verdikte wanden en bevatten een aantal tegen elkaar afgeplatte bruine huidjes ter grootte van de nu meestal verdwenen zetmeelkorrels. De huidjes zijn met elkaar en met de celwand vergroeid, doch nog duidelijk van deze te onderscheiden. Ze zijn dikker dan bij pas aangetaste cellen; korrelig protoplasma is hier slechts weinig of in het geheel niet meer aanwezig. Het wondweefsel bestaat uit radiale rijen, elk van $\pm$ 6 cellen. Tusschen de aangetaste cellen en deze rijen liggen soms ongedeelde cellen. Het reactieweefsel zal uitvoeriger besproken worden bij

de „kringerigheid" waar het sterker ontwikkeld is, dan bij de „pseudo-netnecrose".

Het bovenbeschreven verschijnsel, waarbij lichamen in de cel gevormd, door een zakje omringd worden, doet sterk denken aan het optreden van kristalzakjes. Door SWELLENGREBEL (17), die deze huidjes het eerst beschreef, werd deze vergelijking gemaakt. Tegelijkertijd constateerde VERSCHAFFELT (18) een dergelijk verschijnsel bij verwonde bolschubben van sommige Amaryllidaceae. Uit de resistentie tegen sterk H_2SO_4 komen beide onderzoekers tot de opvatting, dat de huidjes kurkstof zouden bevatten. Omtrent hun verdere samenstelling is, voor zoover ik weet, niets bekend.

Ik trachtte nu na te gaan, in hoever deze huidjes nog een protoplasmatisch karakter bezitten, en in hoever ze werkelijk het karakter van membranen hebben, en men ze dus mag beschouwen als verkurkte wanden, die dezelfde eigenschappen hebben als de wanden der cellen waarin ze voorkomen.

Dat de zetmeelkorrels in de zieke cellen niet van samenstelling veranderd zijn, is waarschijnlijk, want zij gedragen zich even zoo als de korrels der gezonde cellen tegenover alle gebruikte kleurstoffen en reagentia.

De huidjes kleuren zich geelbruin met jood-joodkali. In chloorzinkjodium kleuren zich de celwanden der zieke cellen geel, de huidjes geelbruin; terwijl bij het normale weefsel de wanden duidelijk paars werden. Soedan III kleurt de zieke wanden evenals de huidjes rood, vaak wordt ook het korrelig protoplasma getint. In sterk zwavelzuur lost wel het korrelig protoplasma op, doch de celwanden der zieke cellen en de huidjes blijven onveranderd over, zelfs na 14 dagen inwerking. Op grond van genoemde reacties zou men kunnen besluiten tot het voorkomen van kurkstof in celwanden en huidjes. Daar verkurkte deelen ook vaak houtreacties geven, behoeft men er zich niet over te verbazen, dat in phloroglucine en zoutzuur de wanden zich soms zwakrood, en de huidjes zich een enkele maal vuilrood kleuren, en dezelfde kleuring bij gefixeerd materiaal met fuchsine bereikt wordt. Ook safranine, een kleurstof, die zoowel door verhoute als door verkurkte deelen opgenomen wordt, geeft intense roodkleuring van de celwanden der zieke cellen, en meestal ook van de huidjes en het korrelig protoplasma. Met rutheniumrood kleuren zich eveneens wanden, huidjes en korrelig protoplasma; er zullen dus ook pektinestoffen aanwezig zijn.

Daar het bij sterk aangetaste gedeelten vaak moeilijk uit te maken is, of men alleen met samengedrukte cellen, of ook met opgevulde intercellulairen te doen heeft, zooals SWELLENGREBEL dit soms waarneemt, trachtte ik het zieke weefsel te macereeren, en gebruikte daartoe het mengsel van JEFFREY (een mengsel van 5 à 10 % chroomzuur en salpeterzuur). Na ± 15 minuten inwerking onder het dekglas was het normale weefsel geheel doorzichtig of verdwenen; van de aangetaste cellen verbleekten wand en inhoud. Na 24 uur was de toestand nog onveranderd; na ± 40 uur was het normale weefsel verdwenen, en de zieke cellen geïsoleerd. Zij zijn dunwandig en bevatten geen of weinig korrelige inhoud; de huidjes waren verdwenen. Uit deze reactie blijkt:

(1) dat de aangetaste plekken uit samengedrukte cellen bestaan, en niet uit opgevulde intercellulairen,

(2) dat de celwanden der aangetaste cellen anders reageeren dan de huidjes.

Een 2de methode om de huidjes aan te tasten en de celwanden intact te laten, bleek de inwerking van Eau de Javelle te zijn. Na ± 1 uur waren de huidjes niet alleen verbleekt, maar vertoonden ook een fijnkorrelige structuur; na ± 2 uur inwerking was nog slechts weinig korrelig protoplasma om de zetmeelkorrels aanwezig, juist zooals in de normale cellen. Werd sterk zoutzuur toegevoegd dan trad een hevige chloorontwikkeling op, waarbij de zetmeelkorrels oplosten en de protoplasma-resten in alle cellen samenbalden. (Sterk zoutzuur alleen lost wel de zetmeelkorrels op, maar niet de huidjes. Eigenaardig is het, dat hierna toegevoegde overmaat Eau de Javelle de huidjes niet meer aantast).

Laatstgenoemde reacties wijzen op een protoplasmatisch karakter van de huidjes. In overeenstemming hiermee is de kleuring van huidjes en korrelig protoplasma met methyleenblauw, dat de zieke celwanden daarentegen niet kleurt. Ook het normale protoplasma wordt hierdoor gekleurd. Het was dus nog de vraag of de huidjes als verkurkte wandjes om de zetmeelkorrels te beschouwen waren, of dat zij een protoplasmatisch karakter dragen. In het eerste geval zou na verwijdering van de kurkstof bij hooge temperatuur, zooals VAN WISSELINGH (19) dit aangeeft, een cellulosebasis kunnen overblijven. Ik bracht nu coupes gedurende 2 uren, voorloopig bij 100° in een glycerinebad: geen verandering trad hierna op. Coupes op deze wijze in 50 %ige oplossing van kaliloog gebracht, vertoonden echter ingrijpende verandering: de cellen waren afgerond, en lieten van elkaar los, ook de

aangetaste. De huidjes en het korrelig protoplasma waren meestal verdwenen en overgegaan in gele olieachtige druppels, die verspreid door de cellen lagen. (Fig. 2).

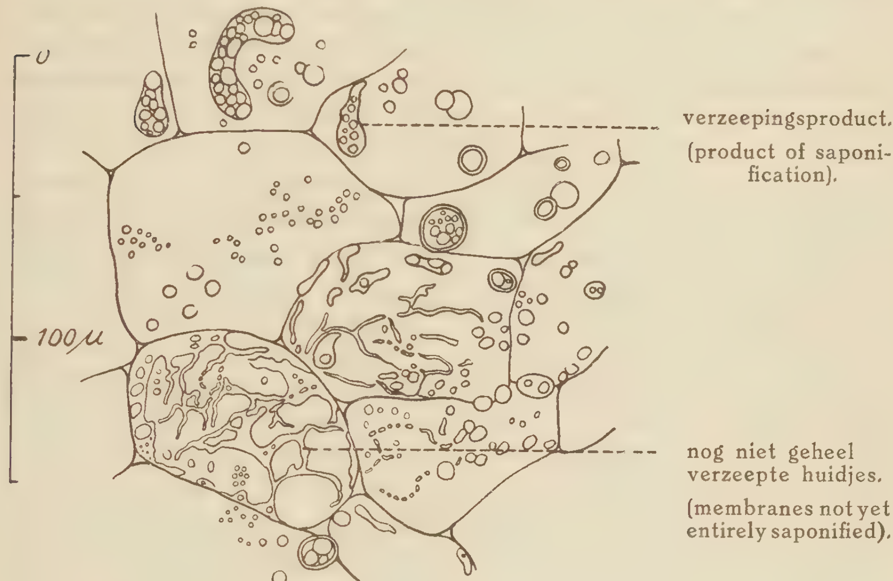


Fig. 2. Pseudonetnecrose bij „Roode Star".
Naar een preparaat gedurende 2 uur met KOH behandeld.

Op andere plaatsen waren de huidjes deels opgelost en deels nog aanwezig als dunne geperforeerde vliesjes. Werden de coupes in water gebracht, dan loste het verzeepingsproduct op; in enkele cellen bleven de resten van nog niet geheel omgezette huidjes zichtbaar. In de celwanden waren nu duidelijk stippels waar te nemen. Daar de omzetting van de huidjes bij een dergelijke lage temperatuur gaat, zal de stof waaruit zij bestaan niet te vergelijken zijn met de kurkstof, die VAN WISSELINGH eerst bij belangrijk hoogere temperaturen kon omzetten; ook blijft bij de aardappel geen cellulosebasis achter. Dat men hier met het verzeepingsproduct van een vet te doen heeft, blijkt ook hieruit, dat de druppels niet oplossen in een verzadigde keukenzoutoplossing.

Resumeerende komt men tot de conclusie, dat hier een vettig degeneratieproduct van het protoplasma aanwezig is. Wordt een cel aangetast, dan zal het protoplasma eerst een grofkorrelige structuur krijgen, en vervolgens doorzichtiger worden waar zich vetten vormen, n.l. om de zetmeelkorrels heen. Door de verharding van het proto-

plasma worden de korrels op hun oorspronkelijke plaats ingesloten. Kleuring met Soedan III en resistentie tegen sterk zwavelzuur bevestigen dit vettig karakter. Doch ook andere stoffen kunnen in de huidjes opgenomen zijn, zooals lignine en pektine.

Beschouwt men parenchymcellen van een gezonde „Roode Star" aardappel, dan blijkt het protoplasma onzichtbaar te zijn, slechts de microsomata ziet men langs wanden en zetmeelkorrels stroomen. Door vitaalkleuringen, b.v. met neutraalrood (1 : 50.000), zooals GUILLIERMOND (6) dit aangeeft, kleuren de celwanden weinig, doch de vacuole is na ± 30 minuten steenrood. De zetmeelkorrels blijken vaak aan één zijde van de vacuole gegroepeerd; van het protoplasma zijn ook nu slechts de microsomata zichtbaar. Dat de cel levend is, blijkt hieruit, dat plasmolyse met 10 % KNO_3 nog mogelijk is. Bij een lichte verschuiving van het dekglas of door even verwarmen van het praeparaat wordt de tonoplast beschadigd en kleuren zich kern en protoplasma. Het laatste vertoont nu een alveolaire bouw en hult de zetmeelkorrels in. Hetzelfde beeld krijgt men door toevoeging van schadelijke stoffen, zooals fuchsine, of na fixatie met chroomzuur. Na 18 of 20 uur inwerking van de neutraalrood oplossing blijkt de tonoplast eveneens beschadigd te zijn; de vacuole verbleekt, terwijl het protoplasma zich intens kleurt. De alveolaire structuur verdwijnt, terwijl een hyaline massa zich om de zetmeelkorrels afzet, die hier en daar in huidjes gehuld worden. (Fig. 3).

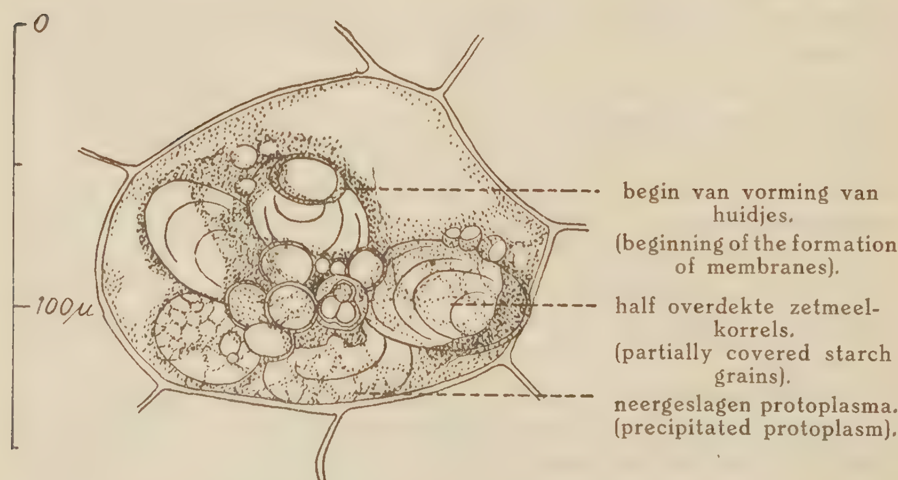


Fig. 3. Normale cel van „Roode Star".
Naar een praeparaat gedurende 18 uur met neutraalrood behandeld.

Dit beeld lijkt zeer veel op dat, wat de pseudonetnecrose te zien geeft; het is zeer goed mogelijk, dat een stof, die in kleine hoeveelheden gedurende korten tijd verdragen kan worden, bij langer inwerking of in grooter concentratie schadelijk wordt en tot de „vettige degeneratie" van het protoplasma leidt, zooals KÜSTER (7) het uitdrukt.

„Kringerigheid".

Bij de „kringerigheid" doen zich met eenige afwijkingen dezelfde microscopische verschijnselen voor. Het makroskopisch onderscheid tusschen deze aantasting en de pseudonetnecrose is echter groot; het ligt hierin, dat bij kringerigheid de aangetaste cellen in gebogen strooken liggen, vaak van slechts één of twee cellen breedte. In tegenstelling met de pseudonetnecrose, die tijdens den bewaartijd van de knollen optreedt, zijn aardappels in den grond reeds kringerig, zoodat hier, bij onderzoek in den winter, meer tijd is geweest voor de vorming van een reactieweefsel. Dit heeft de zieke cellen sterk plat gedrukt, zoodat in Maart de aantastingen van kringerigheid het meest overeenkomen met de oudste beschadigingen door pseudonetnecrose. Aan de randen van een kring zijn vaak nog geïsoleerde zieke cellen te vinden. De aangetaste cellen zelf vertoonen een ziektebeeld, dat overeenstemt met dat der pseudonetnecrose. De huidjes om de korrels in de zieke cellen zijn dun (Fig. 4). Het korrelig protoplasma komt niet voor, of slechts in kleine hoeveelheden.

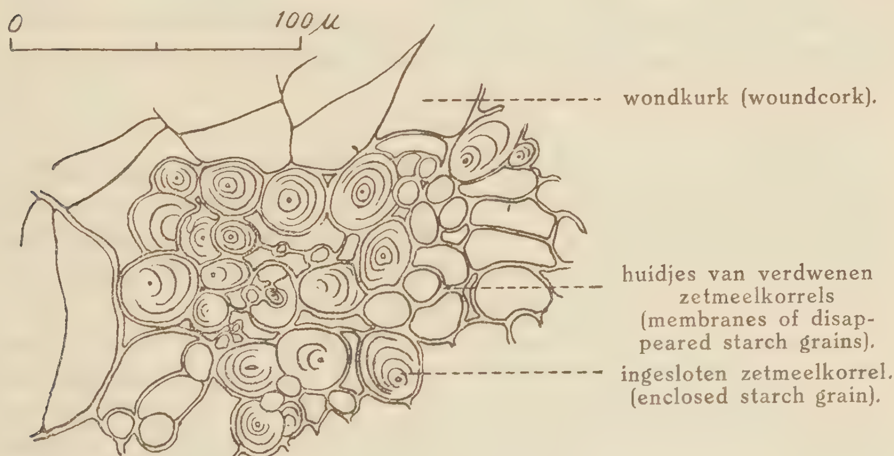


Fig. 4. „Kringerigheid" bij „Eigenheimer".
Naar een praeparaat gekleurd met Soedan III.

Dezelfde reacties als bij de pseudonetnecrose beschreven, werden hier toegepast. Met Soedan III werd eveneens een kleuring van de huidjes verkregen, doch minder intens dan bij de pseudonetnecrose. Met safranine kleurden de huidjes zich noch bij versch, noch bij gefixeerd materiaal; slechts op enkele plaatsen werden ze vuilrood. Na verhitting gedurende 2 uur op 100° in een 50 %ige KOH oplossing, losten de huidjes ook hier op; er was echter een kleinere hoeveelheid van het verzeepingsproduct te vinden dan bij de pseudonetnecrose, hetgeen ook in verband met de dunnere huidjes te verwachten is. De overige reacties en kleuringen vielen alle uit als bij de pseudonetnecrose beschreven.

Conclusie.

Uit de gelijkheid der verschijnselen, komt men tot de conclusie, dat er bij elk der beide besproken ziektegevallen niet een bepaalde schadelijke stof aanwezig zal zijn, die een voor elke ziekte kenmerkende reactie geeft. De cellen van de aardappel kunnen blijkbaar slechts op één wijze reageeren op een schadelijken invloed, welke deze ook is. De plant heeft dan een actiever aandeel in de totstandkoming van het ziektebeeld, dan men oorspronkelijk dacht. Wel is het beeld aan variaties onderhevig. Misschien laten zich de groote makroskopische verschillen tusschen pseudonetnecrose en kringerigheid verklaren, niet alleen uit het verschil in tijd van aantasting, doch ook uit het verschil in verbreiding der schadelijke stoffen. Bij de kringerigheid zou deze vanuit één lenticel moeten geschieden; bij de pseudonetnecrose moeten een aantal afzonderlijke plaatselijke infecties aangenomen worden, met aanvankelijk geringe neiging tot uitbreiding.

Wondreacties.

Afzonderlijk dient nog de bouw van het reactieweefsel nagegaan te worden. Sterk door kringerigheid aangetaste aardappels vertoonen om de zieke celcomplexen een 800—1000 μ breede strook van radiaal gerichte celrijen, waarin te onderscheiden is: een wondphellogeen, een wondphelleem, en een wondphelloderm. (Fig. 5).

Intercellulairen ontbreken hierin, evenals zetmeel, waaraan deze strook zijn doorschijnendheid te danken heeft. Het phelleem bestaat uit ± 7 celrijen, maximaal werden er 9 geteld. De uiterste cel is afgerond en dringt in het aangetaste celcomplex in. De wanden kleuren zich rood met Soedan III en safranine, en blijven ongekleurd na behandeling met rutheniumrood, in tegenstelling met de wanden van

het phelloderm. In de gebruikte maceratievloeistof is het phelloderm na ± 15 minuten opgelost, alleen het phelleem is dan nog rondom de aantasting te vinden. Hetzelfde geldt voor inwerking van sterk zwavelzuur. Na langduriger behandeling lost echter ook het phelleem op. Het

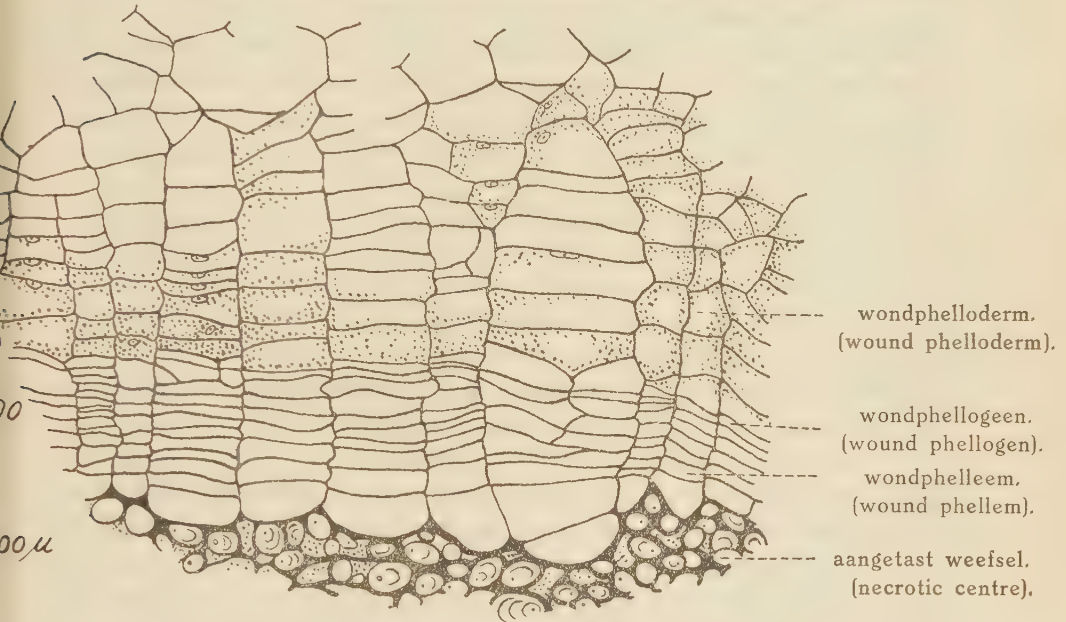


Fig. 5. Kringerigheid bij Eigenheimer, Wondweefsel. Naar een praeparaat gekleurd met rutheniumrood.

phellogeen vertoont zich als een in radiale richting sterk afgeplatte, in tangentieele richting aanéénsluitende laag cellen. Het phelloderm bestaat uit rijen van 7 à 9 cellen; deze zijn rijker aan protoplasma dan die van het phelleem. De wanden kleuren zich met rutheniumrood. Buiten het phelloderm liggen eveneens gedeelde cellen zonder intercellulairen; zij vertoonen dezelfde reacties als de phellodermcellen, doch liggen niet in dezelfde rijen. Deze cellen vormen de overgang naar het zetmeelrijke normale weefsel. Het in aanleg polygene cambium is in een dipleurisch monogeen overgegaan.

MICROSCOPIC INVESTIGATION OF „PSEUDONETNECROSIS" AND „KRINGERIGHEID" OF THE POTATO.

BURR's statement that lack of microscopical investigation has been the cause of confusion in the literature on „netnecrosis" and „internal rust spot" has arisen from ignorance concerning the work of SWELLENGREBEL and other Dutch students. The present paper is indended to show that it is not possible by microscopical investigation alone, to distinguish between different potato diseases of the necrotic type. The response of the plant is the same, however different the cause of necrosis may be.

Pseudonetnecrosis is transmitted by seed tubers. „Kringerigheid" occurs only on certain soils, entering during growth and demonstrating itself on the cut surface as concentric brown rings arising from some point on the skin, often a lenticel; it is not transmitted by seed tubers (SWELLENGREBEL 1907, QUANJER 1926). The rings are composed of necrotic cell groups, which resemble those found inside and outside the xylem in „pseudonetnecrosis".

In the necrotic cells of both the diseases the starch grains are embedded in a brown mass, which consists of a membrane surrounding each individual grain (textfig. 1 and 4), and membranous deposits filling the spaces between the grains. These deposits are in contact with the discoloured cell wall, and give the reactions for suberin, lignin and pectin; the cell walls withstand the action of Jeffrey's fluid and Eau de Javelle better than the deposits, which take the colour of methylen blue, leaving the cell walls unstained. Treatment with 50 pct. caustic potash at 100° C. decomposes the membranous deposits (textfig. 2) and shows them to be fatty products of the protoplasts. This is confirmed by the following fact: when living cells are stained with neutral red according to GUILLIERMOND the vacuoles take the colour, leaving the protoplast unstained. As soon as the protoplast is killed, it absorbs the colour, condenses and the first stages of the formation of membranes on the surface of the starch grains can be observed (textfig. 3).

The tissue surrounding the necrotic spots reacts as potato tissue always reacts in wounds (PRIESTLEY and WOFFENDEN) i.e., a wound phellem presses against the necrotic cells, it is surrounded by a wound phellogen and this in turn by a wound phelloderm. This reaction tissue is more fully developed in „kringerigheid", since this disease proceeds more rapidly (textfig. 5).

LITERATUUR.

1. APPEL, O. Taschenatlas der Kartoffelsorten. Verl. v. Paul Parey, Berlin.
2. ATANASOFF, D. Netnecrosis of potatoes. Phytopathology 1926.
3. BRUYN, DE H. L. G., Het blauw worden van aardappelen. (Blue discoloration of potatoes). Tijdschr. Plantenz. XXXV, p. 185.
4. BURR, S., 1928. Sprain or internal rust spot of potato. Annals applied biology, XV, p. 563.
5. GILBERT, A. Netnecrosis of Irish potato tubers. Vermont Agric. Exp. Station. Sept. 1928. Bull. 289.
6. GUILLIERMOND, A. The recent development of our idea of the vacuome of plantcells. American Journal of Botany, Vol. XVI, 1 Jan. 1929, p. 1.
7. KERLING, L. C. P. De anatomische bouw van bladvlekken. Mededeelingen van de Landbouwhoogeschool te Wageningen. Dl. 32, Verh. 6, 1928.
8. KÜSTER, E. Pathologische Pflanzenanatomie. 3. Auflage. Jena 1925.
9. LÖHNIS, M. P. Onderzoek over Phytophthora infestans (Mont.) de By op de aardappelplant. Proefschrift Univ. Utrecht, 1922.
10. PAPE, H. Krankheiten und Schädigungen der Hackfrüchte anorganischen Ursprunges oder unbekannter Natur im Jahre 1927. Mitt. Biol. Reichsanstalt. Heft 37, S. 142, 1928.
11. PETHYBRIDGE, G. H. Fourth Report of investigations on potato diseases. Irish Dep. Agr. Techn. Instr. Journ. XIII, 3, 1913.
12. PRIESTLEY, J. H. and WOFFENDEN, L. M. The healing of wounds in potato tubers and their propagation by cut sets. Ann. applied Biology, X, p. 96, 1923.
13. QUANJER, H. M. Waarnemingen over „kringerigheid" of „vuur" en over „netnecrose" van aardappelen. Tijdschrift over Plantenziekten, 32 Jg., 4e Afl. p. 97, 1926.
14. —— Een aaltjesziekte van de aardappelplant. De aantastingswijze en de herkomst van haar oorzaak, Tylenchus dipsaci Kühn. Tijdschrift over Plantenziekten, 33 Jg., 6e Afl. p. 137, 1927.
15. ——, THUNG, T. H. en D. L. ELZE. „Pseudonetnecrose" van de aardappel. Mededeelingen v. d. Landbouwhoogeschool, hieraan voorafgaand artikel.

16. SCHWARZ, M. B. De roestvlekkenziekte („rusty spot disease") van aardappelknollen in Ned. Oost Indië. Tijdschrift over Plantenziekten, XXXII, p. 321, 1926.

17. SWELLENGREBEL, N. H. Sur la nature et les causes de la maladie des taches en couronne chez la pomme de terre. Archives Neerlandaises des Sciences Exactes et Naturelles. Série II, Tome XIII, p. 151, 1908.

18. VERSCHAFFELT, E. Réactions cicatricielles chez les Amaryllidées. Receuil des Travaux Bot. Neérl. Vol. IV, 1908, p. 1.

19. WISSELINGH, C. VAN. Sur la lamelle subéreuse et la subérine. Archives Néerlandaises. T. XXVI, 1893, p. 305.

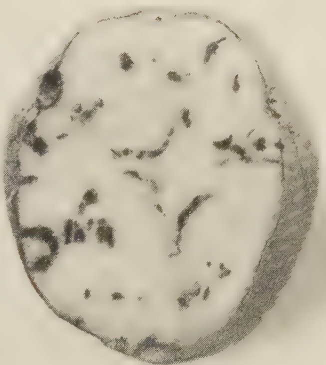


Fig.1

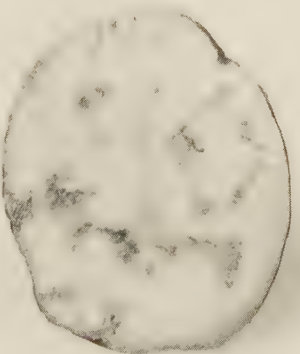


Fig.2

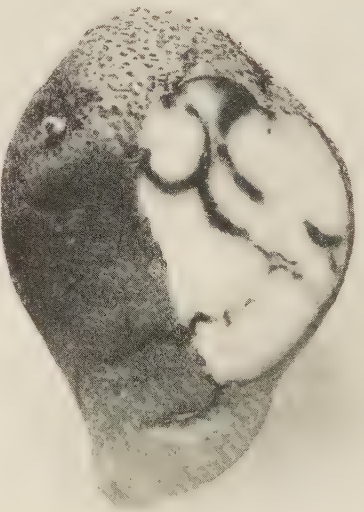


Fig.3

FIGUREN.

Pseudonetnecrose zie voorafgaande verhandeling in dit Tijdschrift van QUANJER, THUNG en ELZE.

1. Kringerigheid in Eigenheimer.
2. „ in Roode Star.
3. „ in Direktor Johansen.

Zie ook tekstfiguren.

Pseudonetnecrosis cp. previous paper in this journal of QUANJER THUNG and ELZE.

1. Kringerigheid in Eigenheimer.
2. „ in Red Star.
3. „ in Director Johansen.

Cp. also textfigures.

THE PHYSIOLOGY OF TUBER-FORMATION IN SOLANUM TUBEROSUM L.

(MET EEN HOLLANDSE SAMENVATTING:
DE PHYSIOLOGIE DER KNOLVORMING BIJ
DE AARDAPPEL)

BY

S. J. WELLENSIEK

FORMERLY AT WAGENINGEN, HOLLAND
PRESENTLY AT BUITENZORG, JAVA.

TABLE OF CONTENTS.

I. INTRODUCTION.

Among the bulk of literature on the potato-tuber very few communications deal with the physiological nature of tuber-formation: the nature of the processes which induce it. Investigations by the present author on a remarkable case of pathological tuber-formation which occurs immediately after planting the mother-tubers, were conducted during 1922—1924. They led to the establishment of a relationship between the abnormal tuber-formation in question and the normal formation of tubers, by ascribing both to essentially the same process, namely increase of the concentration of food-substances. In the former case there is an indirect increase of this concentration by loss of water, in the latter the increase of concentration is direct by the action of photosynthesis.

During 1927—1929 former studies were extended, while especially another type of abnormal tuber-formation was investigated. By comparing the results obtained in this case with those of other investigators relative to other types of tuber-formation, the general conclusion could be drawn that all different types of tuber-formation, either normal or abnormal, are induced by increase of concentration of food-substances. However, as the case is, this increase of concentration may be direct or indirect, absolute or relative.

In the first part of the present paper my own new investigations will be described. Next the different types of tuber-formation, as mentioned in the literature, will be briefly discussed and an attempt will be made to bring them under one viewpoint as to their mode of origin.

II. OWN INVESTIGATIONS.

§ 1. *Historical.*

The formation of a few small tubers without any aerial development of the plant after planting the mother-tubers has occurred as a serious disease in the early potato growing districts of Holland and Germany. In a preliminary note of 1923 WELLENSIEK (43) [1]) proved that this

---

[1]) For Literature Cited see pp. 36—39.

disease is inorganic. He could produce the premature tuber-formation artificially by storing the seed-potatoes at relatively high temperatures. This induced an early formation of much sproutmaterial which had to be removed once or more frequently before planting. The removal of too much sproutmaterial during storage was correlated to the premature tuber-formation and consequently the circumstances which induce a rapid sprouting during storage also favor the formation of young tubers immediately after planting. During the storage-period environic circumstances can bring forth a tendency for premature tuber-formation; whether or not premature tuber-formation actually occurs depends also on circumstances after planting.

In a more extensive study (44) the following circumstances were found to favor the sprouting during storage: early digging of the mothertubers, small size of tubers, storing at relatively high temperature in the dark. Planting at low temperature in dry soil is favorable for premature tuber-formation, when during storage a tendency has arisen, but has no influence when the storage conditions have prevented too much sproutformation. Sproutformation is checked to a higher or lower degree by late digging of the mothertubers, large size of tubers and especially by storing at low temperature in the light. After planting high temperature and moist soil favor normal development. From a practical standpoint storing in the light at low temperatures is the best way of preventing premature tuber-formation. As was recently found (47), artificial light can substitute sunlight perfectly well in seed-potato storing.

In the 1924-publication (44) the tendency for premature tuber-formation which may arise during storage, was supposed to be caused by a relative increase of concentration of the dissolved substances due to the loss of water. This hypothesis was a.o. substantiated by : (1) determination of the water contents of tubers and sprouts, (2) determination of the concentrations by studying the plasmolysis in sprouts with and without a tendency for premature tuber-formation, (3) artificially drying out of tubers which induced a tendency for premature tuber-formation.

In 1929 OORTWIJN BOTJES (23) published results which at first sight seem to be contradictory to the above hypothesis. He planted tubers in wet sand, removed the sprouts as soon as they appeared above the sand and, after some time, observed the formation of young tubers, althou the mother-tubers contained a considerably larger amount of water than at the start of the experiment. OORTWIJN

BOTJES hypothesized that the tuber-formation was caused by a relative loss of albuminoids thru sproutremoval which results into a relative increase of carbohydrates. Sprouts contain namely two to four times as many albuminoids as the mother-tubers. As will be discussed in the present paper, OORTWIJN BOTJES's case of tuber-formation is entirely different from WELLENSIEK's with regard to the internal and external circumstances under which the tubers are formed. There is no à priori reason to suppose that in both cases the cause should be the same. Hence some authors are incorrect in stating that OORWIJN BOTJES proved WELLENSIEK's theory to be incorrect [cp. KÖHLER (18), MC. INTOSH (21, pp. 241—242), REMY (28, pp. 273—274), DÖRING (10, p. 248)]. The use of the name premature tuber-formation for both different cases has led to this false statement.

In the same publication as discussed above OORTWIJN BOTJES (23) concluded that dry storage of potatoes helps to prevent the tendency for premature tuber-formation to arise. WELLENSIEK (45), however, found that the atmospheric humidity has no appreciable influence on sproutformation during storage and hence on the bringing about of the above tendency. This led OORTWIJN BOTJES (24) to precise his former statements, whereafter WELLENSIEK (46) concluded that liquid water should not be present especially when the seed-tubers are stored in soil-covered clamps, but that the relative atmospheric humidity is of no practical importance, especially in modern storage-houses.

§ 2. *Scope of new experiments.*

The present investigations were set up in order to study in detail OORTWIJN BOTJES's case of tuber-formation and to see in how far his hypothesis holds true, also for my case. The testing of OORTWIJN BOTJES's hypothesis to my case has not been conclusive in all respects and further experiments are desirable. However, due to change of position I have to stop the research on tuber-formation, but the work, althou not completed in all respects, has yielded results which are interesting enough to be published.

Besides a general study of the conditions under which tuber-formation occurs in OORTWIJN BOTJES's case, the hypothesis that deficiency of nitrogenous substances has to do with tuber-formation, was especially tested. This was done by growing one half of the experimental series in sand to which a solution of 1 % nitrate of ammonium in tap water was added, while the other half received nothing but tap water.

§ 3. *Materials and Methods.*

Thruout the experiments healthy tubers were used of the variety „Schotsche Muis" (synonyms: Eersteling, Erstling, Midlothian Early, Duke of York, Souris d'Écosse). This variety is especially suited for experiments relating to sprouting and tuber-formation, because it forms sprouts very readily and because it is very susceptible for premature tuber-formation. All tubers were washed before storage which was performed at 2° C. unless otherwise stated in the following. They were numbered with ink. When sprouted tubers were to be planted, they were placed at about 20° C. some weeks before planting. Planting was done in square pots (cp. figs. 2, 3, 5, 6) which were filled with pure sterilized sand. Usually six tubers were planted to one pot and two pots were placed in a zinc container which was filled either with tap water or with some solution of a N-compound. Water or salt-solutions are not taken by the tubers immediately, only roots take them. The formation of roots is therefore necessary before water or solutions will be taken to the growing plant. As a rule, roots are formed at the bases of sprouts (cp. fig. 1). SCHLUMBERGER (30) described a case of root-formation right from the tuber. This was obtained by suppressing the normal root-formation, while the basal end of the tuber probably was injured which induced root-formation from a callus. Such cases are highly exceptional however.

In a preliminary set of experiments I studied the action of a 1 % and a 2 % solution of nitrate of ammonium and a 1 % solution of asparagine in tap water in comparison with pure tap water. Asparagine proved to be injurious to the sprouts and, to a lesser degree, also to the mother-tubers (cp. figs. 5 and 6 at the right). This is a confirmation of SUZUKI (36), who, in 1896, found that excess of asparagine is injurious to the plant. Furthermore I found in my experiments that NH_4NO_3 suppresses root-formation considerably, especially the stronger solutions, when applied right after planting. The tuber pictured at the left of fig. 1 developed in sand with tap water, the right tuber in the same figure grew in sand with an excess of 2 % NH_4NO_3 under, for the rest, similar conditions, However, a 1 % solution of NH_4NO_3 did not influence the root-development at all, when the tubers had started root-formation in sand with pure tap water. Therefore, in all series a 1 % solution of NH_4NO_3 was used and this was added in excess to the zinc container in which the pots stood, after root-formation had started.

A similar influence of nitrogenous salts on root-formation, as found in my preliminary series of experiments, is known from other plants. KRAUS and KRAYBILL (19, p. 80), STARRING (32), SCHRADER (31), REID (25, 26, 27) — all working with tomato-cuttings —, GERICKE (11), — working with wheat —, HICKS (14) — working with willow-cuttings —, all found that excess of nitrogen may suppress root-formation, while in the absence of nitrogen abundant root-formation may take place, depending on the available quantity of carbohydrates. The determining factor is namely the ratio carbohydrate: nitrogen; a high C/N ratio favors root-formation, a low C/N ratio may suppress it. HICKS (14) even concludes: „LOEB's hormone hypothesis is explained as a gradation of the C/N ratio throughout the cuttings. Shoots grow at the area of the lowest C/N ratio, roots at the higher". It is most probable that in my above case the C/N ratio has become relatively low due to an excess of N given in the form of 2 % NH_4NO_3. JANSSEN (15) obtained very little root-formation in potato-cuttings, grown in water cultures, in the case of N-deficiency. It may be questioned, however, whether enough carbohydrates were present, so that not N-deficiency as such was the cause of the suppressed root-formation. —

Before planting, the tubers were weighed individually. When sproutremoval was practised, the plants were dug up from the sand by hand, carefully washed in running water, allowed to get air-dry — usually done by leaving them for 24 hours at room-temperature —, whereafter the sprouts or, as the case was, the sprouts, the young tubers and the mother-tubers were weighed individually. When necessary the mother-tubers were immediately planted again after weighing. A considerable variation was found to occur in the quantities of sprouts and young tubers formed. The attention to this fact was drawn before (44, p. 189), while recently DE BRUYN (8, p. 190) summarized more instances of great variations in physiological characters of potatoes. Since at least one of the causes for this variation is due to differences in the size of the mother-tubers, all values determined for quantities of sprouts or tubers were expressed in percentages of the original weight of the mother-tubers, as was also succesfully done in a recent investigation by the present author (47). Means and their mean errors were then calculated for the series of percentages. In some series also the ratio of sprouts to young tubers was calculated for the individual plants; these ratios were then averaged and the corresponding mean errors were calculated.

The water contents of the tubers were determined by drying at

105° C. up to constant weight. In the dry matter nitrogen according to KJELDAHL's method and carbohydrates according to EWERS's method were determined. The determinations of nitrogen and carbohydrates were carried on by the staff of the „Station voor Veevoederonderzoek". Thanks are due to Drs. B. R. DE BRUYN and G. B. PEPPELMAN VAN KAMPEN for their hearty cooperation.

Special treatments of the individual experimental series will be described in the individual cases.

§ 4. *Description of Experiments; Conclusions.*

A. *Tuber-formation after planting in wet sand.*

When potato-tubers are planted in wet sand they sprout very rapidly under suitable temperature-relations (fig. 2). When the sprouts are removed, new sprouts are formed. After the removal of a certain quantity of sprout material, no new sprouts are formed or formed sprouts do not develop further and young tubers are formed (fig. 3). This experiment of OORTWIJN BOTJES (cp. p. 6) succeeds perfectly well. Usually the young tubers are formed on the sprouts (fig. 4). Sometimes, however, they are formed almost immediately on the mother-tuber (fig. 8). The young tubers may get fairly large, although they are formed only from food-substances derived from the mother-tuber, since photosynthesis does not take place, because the plants are kept in the dark.

The following investigations were made relating to this type of tuber-formation.

1. G e n e r a l   c o n d i t i o n s. — Following data refer to 47 plants (1 tuber rotted away prematurely), developed in the dark in wet sand. Sproutremoval was practised twice, resulting in an average loss of 41,47 ± 1,95 % of the original tuber-weight. After the second sproutremoval, formation of young tubers took place. The total mass of sprouts and young tubers including the two sproutremovals was then determined, just as the final weight of the mother-tubers.

We find:

average total mass of newly formed substances ..	102,62 ± 1,76 %
average final weight of mother-tubers	109,74 ± 2,66 %
sum	212,36 ± 2,00 %
average original weight of mother-tubers	100,00 ± 0,00 %
average „gain"	112,36 ± 2,00 %

These figures — expressed in percentages of the original mother-tuber-weight — clearly demonstrate the enormous amount of water taken in by the roots from the sand, for the above indicated „gain" equals amount of water taken from the sand diminished by respiration and transpiration. Consequently more than 112,36 ± 2,00 % of the original mother tuber weights is added to the plants during the course of the experiment. This resulted in the formation of a mass of sprouts and young tubers weighing a little over the original tuber-weights. Indeed, water has an enormous power of translocating the substances, stored in the cells of the mother-tubers, from these tubers to newly developing sprouts and young tubers.

2. Influence of NH_4NO_3 under sproutremoval in the dark. — When the action of pure tap water is compared with the action of a 1 % solution of NH_4NO_3, the latter proves to increase sprout-formation and to decrease tuber-formation. The results of a preliminary experiment are pictured in figs. 5 and 6. The three sets in fig. 5 from left to right represent water, 1 % NH_4NO_3 and 1 % asparagine. The situation some time after sproutremoval is given in fig. 6. These figures clearly demonstrate that in water more young tubers are formed than in NH_4NO_3, while asparagine has injured the plants.

Quantitative data were obtained in two sets of 24 plants each. The one set was grown in sand with tap water, the other one in sand with 1 % NH_4NO_3. Sproutremoval was practised 46 days after planting. The average percentages of sprout-material formed — expressed in percentages of the mother-tubers — were:

in water	11,79 ± 0,84 %	difference — 14,00 ± 1,62 %
in NH_4NO_3	25,79 ± 1,38 %	

We see that in NH_4NO_3 more than twice as much sprout-material has been formed than in water. The tubers were planted again and after 42 days young tubers were present in 14 of the „water tubers" and in 5 of the „NH_4NO_3-tubers". Consequently almost three times as many mother-tubers in water as in NH_4NO_3 had formed young tubers. In so far as no young tubers had been formed the following quantities of sprouts were found:

in water ..	13,20 % 1,92 %	difference — 16,49 ± 2,27 %
in NH_4NO_3	29,69 ± 1,21 %	

These values agree very well with those found for the first sprouts. In so far as besides sprouts young tubers had been formed, the following values were obtained:

sprouts,	in water 6,14 ± 0,72 %	difference — 21,66 ± 2,96 %	
	in NH_4NO_3 27,80 ± 2,87 %		
young tubers,	in water 18,79 ± 3,15 %	difference 12,39 ± 4, 17 %	
	in NH_4NO_3 6,40 ± 2,74 %		

These values demonstrate that NH_4NO_3 has a strong tendency to promote sprout-formation and to decrease tuber-formation. We can express these results in this way that the ratio of young sprouts to young tubers gets higher by the action of NH_4NO_3. The following values were found for these ratios:

in water ..	0,83 ± 0,10	difference — 6,51 ± 1,80
in NH_4NO_3 ..	7,34 ± 1,80	

The complete sets of tubers in the present experiment are pictured in fig. 7. The typical tuber-formation in water is given in fig. 8; in NH_4NO_3 in fig. 9. We see that the young tubers in NH_4NO_3 have a tendency to form sprouts at their tops, while the young tubers in water do not do so as a rule. Again, this points to the tendency of NH_4NO_3 to promote sprout-formation.

In judging the above results we should keep in mind that the determinations were made while the process of development was still proceeding. We have fixed, therefore, the situation at a certain stage of development and not the final situation at which no further development takes place.

3. The influence of sproutremoval. — The question naturally arises whether sproutremoval is necessary in order to obtain tuber-formation. This is not the case. When tubers are planted in wet sand and when no sprouts are removed, nevertheless young tubers are formed after some time, although the plants are kept in perfect darkness. Compared with plants in which sproutremoval is practised, the formation of young tubers is usually delayed for a few days. It lies in the place where the young tubers are formed that it is exceedingly

hard to express such differences in accurate figures which anyhow are small, namely in a special case, about 5 days.

In order to study the action of NH_4NO_3 on plants without sprout-removal, two sets of 24 tubers were planted in sand with water, resp. with 1 % NH_4NO_3. They were kept in the dark and left undisturbed for 104 days. Growth had stopped then and the aerial parts of the plants began to decay. One plant in each set had decayed too much, so that 23 plants remained. We then find:

sprouts,	in water	34,33 ± 2,48 %	difference — 14,75 ± 4,06 %
	in NH_4NO_3	49,08 ± 3,22 %	
young tubers,	in water	19,28 ± 3,13 %	difference — 1,33 ± 4,46 %
	in NH_4NO_3	20,61 ± 3,19 %	

Hence there is no difference in the amount of young tubers formed, but in NH_4NO_3 the amount of sprouts — and consequently also of the total quantity of newly formed substances — is considerably larger than in water.

We see, furthermore, that sproutremoval is not essential to the formation of young tubers. However, striking differences occur between the quantities of sprouts and young tubers as found in the present material and those occuring in the experiment described above sub 2. With sproutremoval NH_4NO_3 gave more young sprouts and fewer young tubers than water did. Without sproutremoval NH_4NO_3 gave more young sprouts than water did, but about the same quantity of young tubers were formed as in water. The essential feature is not the sproutremoval, however, but the duration of the experiment. In the first of the above two cases (sproutremoval) the plants were in full growth when they were disturbed; in the second case the growth had stopped. It would then follow that NH_4NO_3 only delays tuber-formation, but does not influence the final quantity of young tubers. The final quantity of sprouts is increased by NH_4NO_3, however.

4. The action of NH_4NO_3 at different temperatures without sproutremoval in the dark. — Sets of 10 tubers were treated as in the last described experiments. One double set was placed at about 22° C., another one at about 15° C. The results after 96 days — plants not full grown yet — are summarized below.

22° C.

sprouts	in water 19.90 ± 2.65 %		difference − 31.54 ± 6.21 %
	in NH_4NO_3 51.44 ± 5.62 %		
young tubers	in water 54.44 ± 2.32 %		difference + 26.67 ± 3.56 %
	in NH_4NO_3 27.77 ± 2.70 %		
ratio spr. tub.	in water 0.37 ± 0.06		difference − 1.70 ± 0.41
	in NH_4NO_3 2.07 ± 0.41		

15° C.

sprouts	in water 10.40 ± 1.55 %		difference − 1.50 ± 2.32 %
	in NH_4NO_3 11.90 ± 1.73 %		
young tubers	in water 52.60 ± 1.15 %		difference − 0.20 ± 4.17 %
	in NH_4NO_3 52.80 ± 4.01 %		
ratio spr. tub.	in water 0.21 ± 0.03		difference − 0.05 ± 0.06
	in NH_4NO_3 0.26 ± 0.05		

At 22° the action of NH_4NO_3 was the same as in formerly described experiments which were all conducted at similar temperatures.

At 15°, however, no influence at all could be observed. It is possible that the activity of the roots is suppressed at 15°, so that practically no NH_4NO_3 or water is taken to the plants. If this holds true, not the action of NH_4NO_3 as such is suppressed at low temperatures. I draw the attention to the fact that evidently the tuber-formation is not suppressed by the low temperature; on the contrary, considerably more tubers were formed at 15° than at 22° in the case of NH_4NO_3. This may be due, however, to the action of NH_4NO_3 at 22° delaying the tuber-formation. On the other hand, it is a well known fact that low temperatures favor tuber-formation [VÖCHTING (42), WELLENSIEK (43, 44)], so that there is nothing surprising in the above results.

5. The action of NH_4NO_3 on plants growing in light. — Althou not strictly belonging to the original scope of experiments, the action of NH_4NO_3 on tuber-formation of plants in which photosynthesis took place, was studied. Twenty plants were grown in wet sand, twenty more plants were grown in sand to which 1 % NH_4NO_3 was added. The pots were placed side by side in a greenhouse. NH_4NO_3 made the plants intensely green compared with those plants lacking nitrogen and it kept them longer in active growth. As early as about a month after planting, the plants in water began to decay and the NH_4NO_3 plants soon followed. At the left of fig. 10 a

„water-plant" is pictured, while at the right of same figure a „NH_4NO_3-plant" is given. It appears that growing in NH_4NO_3 has given more tubers which are considerably smaller, however. Figure 11, in which the total yields of 10 plants in water and of 10 plants in NH_4NO_3 are pictured, clearly demonstrates that in water about twice as much tuber-material has been formed than in NH_4NO_3. The following average numbers of young tubers per plant had been formed:

in water	10,3 ± 1,81	diference: —4,8 ± 3,65
in NH_4NO_3	15,1 ± 3,17	

The difference is not a real value, but it should be kept in mind that there is an enormous variation. For the average weights of young tubers per plant were found:

in water	32,60 ± 3,01 grams	difference: 18,10 ± 3,68 grams
in NH_4NO_3	14,50 ± 2,13 grams	

The larger number of young tubers formed in NH_4NO_3 is most probably correlated to the larger number of sprouts which is formed in NH_4NO_3 (cp. fig. 10), since tubers arise at the sprout bases. The considerably larger total production of tubers in water indicates that NH_4NO_3 has the same tendency in assimilating plants as in not assimilating plants, namely to increase sprout-formation and to delay tuber-formation.

6. Chemical analyses. — In addition to the above experiments the dry matter contents were determined and in the dry matter proteins (6¼ × N) and total carbohydrates were determined (cp. p. 10). All following figures are averages of 10 analyses, unless otherwise stated. Let us first compare the constitution of the mother-tubers before planting (I) with their constitution after the formation of young tubers under sproutremoval in wet sand (II). We find:

	I	II	difference
dry matter	22,34 ± 0,34 %	6,27 ± 0,53 %	16,07 ± 0,63 %
proteins	6,80 ± 0,21 %	4,22 ± 0,09 %	2,58 ± 0,23 %
carbohydrates ..	66,54 ± 1,03 %	16,02 ± 0,95 %	50,52 ± 1,40 %

Roughly speaking these figures indicate that about 27 % of the original dry matter, 62 % of the original proteins and 24 % of the carbohydrates have remained in the mother-tubers, so that about 73 % of the dry matter, 38 % of the proteins and 76 % of the carbohydrates have been used in the formation of the new sprouts and

tubers. GRÜNTUCH (13, pp. 391—392) found a decrease from 26 % tot 4 % in the dry matter contents before and after germination in the soil, which values agree fairly well with mine.

The above figures from the II group relate to tubers from plants which had stopped growth. Following figures relate to plants which were still growing, so that they may not be compared with the above II group. They make comparison possible between „water-plants" (III) and „NH_4NO_3-plants" (IV). For the mother-tubers were found:

	III	IV	difference
dry matter	11,12 ± 0,56 %	12,55 ± 0,42 %	— 1,43 ± 0,70 %
proteins	6,52 ± 0,42 %	10,38 ± 0,43 %	3,86 ± 0,60 %

In the young tubers were found:

	III	IV	difference
dry matter	21,45 %	18,27 %	3,18 %
proteins	8,4 %	22,6 %	— 14,2 %
carbohydrates ..	60,3 %	47,7 %	12,6 %

The last figures are the results of one analysis in each case. Lack of time prevented to make more analyses, so that no errors can be calculated. Incomplete as some of the figures may be, they clearly indicate that growing in sand with NH_4NO_3 results in a considerably larger quantity of proteins, both in the mother-tubers and in the young tubers. This is expected, of course. The differences in the dry matter contents are small and inconclusive. Carbohydrates were found in larger quantity in the young tubers of group III than in those of group IV; it is remarkable that the sums of proteins and of carbohydrates in the young tubers are about the same in groups III and IV. No carbohydrates were determined in the mother-tubers of these groups.

7. Conclusions. — The most important conclusions with regard to the nature of tuber-formation which can be drawn from the above experiments are the following.

Potato-plants growing in wet sand in the dark form young tubers after some time. Sproutremoval is not essential to this tuber-formation; it also occurs without any sproutremoval. When NH_4NO_3 is given to the plants the sprout-formation is increased and the tuber-formation is delayed. The final quantity of young tubers is not materially influenced by gifts of NH_4NO_3.

Let us now discuss in how far OORTWIJN BOTJES's hypothesis that tuber-formation in this case is induced by a relative N-deficiency, holds true. We should then keep in mind that from the substances of the mother-tubers sprouts are formed first; after a certain stage of development young tubers are formed and these arise originally at the bases of the sprouts, hence near the mother-tubers. The place of origin of the young tubers suggests that they are formed from substances which spring from the mother-tubers, for photosynthesis is excluded and consequently no carbohydrates are formed in the aerial parts of the plants. It may happen that sprouts stop their growth and that substances from the sprouts are transferred downwards, but at the start of tuber-formation the growth of the sprouts has not stopped yet as a rule. It then sounds quite plausible that by the development of the sprouts a certain substance is drawn from the mother-tubers, changing their constitution in such a way that no considerable sprout-development is possible any more, but that tuber-formation is induced. From the experiments with NH_4NO_3 it would follow that relative absence of a nitrogenous compound — relative increase of one or more other substances — may induce tuber-formation. However, excess of N only delays tuber-formation, but does not completely prevent it. This suggests that some other substance essential to sprout-formation gets exhausted and that the relative increase of other substances, arising from the exhaustion of the sprout-forming substance, induces tuber-formation.

The above hypothesis is partially similar to OORTWIJN BOTJES's. With OORTWIJN BOTJES it considers tuber-formation to be caused by a relative deficiency of a certain substance. However, deficiency of a nitrogenous compound cannot account for all instances of tuber-formation of the present type. Which substance or which substances are the determining factors can only be guessed.

B. *Tuber-formation after storage in the air under sprout removal.*

When during storage in the dark a certain quantity of sprout-material has been removed, the mother-tubers form young tubers right after planting without any aerial development (fig. 16). This type of tuber-formation was amply discussed in § 1 of the present chapter. Following new investigations were made.

1. Influence of NH_4NO_3 on different crops of sprouts. — When the „first sprouts" of the mother-tubers are removed, „second sprouts" are formed; when these are removed

again, „third sprouts" are formed and so on. With the increase of the number of sproutremovals, the tendency for premature tuber-formation after planting also increases (cp. p. 6). In order to study the action of NH_4NO_3 in this case, double sets of 12 tubers resp. with first, second, ..., fifth sprouts were planted, one set in sand with water, another set in water with 1 % NH_4NO_3. If the tendency for premature tuber-formation is caused by N-deficiency, it might be expected that gifts of NH_4NO_3 would make this tendency to disappear. If the tendency in question is not caused by N-deficiency, it might be expected that in the first three cases — no tendency present — NH_4NO_3 would act as in former experiments, but that it would not influence tuber-formation in the fourth and the fifth case — tendency present due to too great a loss of sprout-material.

Storage had taken place at 18° C. The losses due to sprout-removal, transpiration and respiration, expressed in percentages of the original mother-tuber-weights, amounted to:

2,66 ± 0,20 % after one sproutremoval
4,38 ± 0,25 % after two sproutremovals
7,38 ± 0,39 % after three sproutremovals
10,95 ± 0,52 % after four sproutremovals.

The following table gives the values obtained for the sprouts and the young tubers formed in the different sets.

planted with	duration of experiment in days.	treatment	% young sprouts	difference	% young tubers	difference
first sprouts	117	in water	31.25 ± 1.72	— 1.91 ± 2.49	43.58 ± 4.09	15.83 ± 5.19
		in NH_4NO_3	33.16 ± 1.80		27.75 ± 3.20	
second sprouts	98	in water	45.17 ± 3.83	8.34 ± 5.36	46.75 ± 3.68	—6.59 ± 7.11
		in NH_4NO_3	36.83 ± 3.75		53.34 ± 6.08	
third sprouts	79	in water	43.08 ± 3.44	—45.34 ± 9.10	37.00 ± 4.14	15.58 ± 7.28
		in NH_4NO_3	88.42 ± 8.43		21.42 ± 5.99	
fourth sprouts	55	in water	24.17 ± 1.83	— 7.91 ± 3.70	40.17 ± 3.52	13.67 ± 5.03
		in NH_4NO_3	32.08 ± 3.22		26.50 ± 4.06	
fifth sprouts	29	in water	5.00 ± 0.81	— 0.75 ± 1.15	19.29 ± 3.91	0.54 ± 5.08
		in NH_4NO_3	5.75 ± 0.81		18.75 ± 3.25	

We see that NH_4NO_3 has influenced somewhat the tuber-formation in the first case and that it has exercised a decided influence on the sprout-formation in the third case. The other values do not reveal any clear influence, so that the total results are rather puzzling. However, some serious objections against the experiment in question can be raised. The different sets (first sprouts, second sprouts, etc.) were not planted simultaneously, but the second group was planted 19 days after the first one, the third one 19 days after the second one, and so on. Consequently entirely different times during which NH_4NO_3 could exercise its influence were involved in the different sets. Furthermore the experiment was conducted at 15° C. and we have seen that most probably NH_4NO_3 has no influence at this temperature (cp. p. 14). This was not known yet when the present experiment was running. It might be that in the third case an abundant and early root-formation had occurred, so that NH_4NO_3 could be taken to the plant in this special case. Be that as it may, the experiment must be repeated in order to yield more satisfactory results. It will then be necessary to plant the different sets simultaneously and to run the experiment at a higher temperature. Planting simultaneously will be possible when the tubers of the first group after forming their first sprouts are not planted, but are put at low temperature, e. g. 2° C., where no further development of sprouts takes place. The same must be done with the tubers of the second group after the formation of their second sprouts, and so on. Planting can then take place when the fifth group is ready.

The present experiment has given unsatisfactory results. No mention would have been made of it, if not change of position forces me to stop the present research (cp. p. 7). Therefore the above must be considered as the description of a method of investigation for future workers.

2. Chemical analyses. — In tubers with fifth sprouts the dry matter and in the dry matter proteins and carbohydrates were determined. For the sake of comparison also the values in the original mother-tubers — without sprout-removing —, mentioned on p. 15, will be given under I, while V represents the tubers after four sprout-removals.

	I	V	difference
dry matter ..	22,34 ± 0,34 %	30,35 ± 1,55 % [1]	—8,01 ± 1,58 %
proteins	6,80 ± 0,21 %	5,56 ± 0,36 %	1,24 ± 0,42 %
carbohydrates .	66,54 ± 1,03 %	63,14 ± 1,24 %	3,40 ± 1,61 %

We see that during the storage-period the dry matter has increased with about 36 % (due to loss of water), while 18 % of the proteins and 5 % of the carbohydrates have disappeared (due to sprout-removal and respiration). Under these changes the tendency for premature tuber-formation has arisen. No figures, relating to OORTWIJN BOTJES's case and comparable to the above, are available. The figures, given on pp. 15—16 namely refer to mother-tubers which had already formed young tubers. It is therefore hard to draw any definite conclusions, with regard to the nature of the tendency for premature tuber-formation. But one striking difference occurs between the two cases, namely in the dry matter contents. In OORTWIJN BOTJES's case there is an enormous decrease in the dry matter contents during the development of the plants, while in my case the dry matter increases not inconsiderably due to loss of water. This would suggest that in my case absolute increase of concentration may account for the premature tuber-formation.

There is another indication that premature tuber-formation is caused by an indirect absolute increase of concentration and not by an indirect relative increase. If the increase in concentration would be relative due to e.g. deficiency of proteins, sprout-formation can only be induced by adding these proteins to the plants. However, when the plants can only take pure water, while growing in pure sand, they usually form sprouts after root-formation has taken place (cp. 44, p. 219 and figs. 7 and 8).

§ 5. *Discussion of Results.*

When we compare the above results on OORTWIJN BOTJES's case of tuber-formation with former results (cp. pp. 5—6) and the few new results on my case of premature tuber-formation, it is clear that both cases differ widely as to the general circumstances under which they occur. In the former case tuber-formation is evidently induced by deficiency of a substance which is essential to sprout-formation,

[1] Great variation caused by one individual case with a wide deviation from the mean.

causing a relative increase in the concentration of other substances. In the latter case there is an absolute increase of concentration due to loss of water. Both cases should therefore distinctly be separated. The name „premature tuber-formation" may not be applied to OORTWIJN BOTJES's case, since there is nothing premature in it: young tubers are formed after the development of a certain quantity of sprout-materials. The most important difference between the two cases lies in the fact that in the former one the mother-tubers are allowed to take water from the soil, while in the latter case a tendency for premature tuber-formation arises during storage. Different from what I suggested before (46) it will be advisable to use the name „premature tuber-formation" only for my case or for analogous cases and to refer to the other type of tuber-formation simply as „OORTWIJN BOTJES's case".

Perhaps a few questions have been answered by the above experiments, a whole series of questions remains unanswered. It would be highly interesting to study the action of other substances than NH_4NO_3, e.g. K and P salts, in the same way as was done with the NH_4NO_3. It is worth while studying the action of limited quantities of such substances and of combinations of them instead of applying them in excess as in my above experiments. The question also arises in how far such studies have practical importance with regard to the application of fertilizers. The results, described on p. 15 indicate that excess of N decreases tuber-formation. The method of research may perhaps be valuable in answering questions relating to fertilizing.

III. THE DIFFERENT TYPES OF TUBER-FORMATION IN THE POTATO, AS DESCRIBED IN THE LITERATURE.

In this shapter we shall briefly mention the different types of tuber-formation in the potato which have been described in the literature and we shall discuss their mode of origin.

1. N o r m a l t u b e r - f o r m a t i o n. — In the normal development of the potato-plant, the planted tubers form sprouts which, above the soil, become the foliage-bearing stems. At the bases of the stems, below the surface of the soil, roots are formed and after a certain stage of development of the aerial part of the plant has been reached, tuber bearing stolons arise. The left plant in fig. 10 represents the normal type of tuber-formation. AIMÉ GIRARD (12), in 1886-'88, very

carefully studied the stages of development in the potato-plant; he concluded that young tubers are formed, when the aerial part of the plant has almost entirely reached its maximum development. More recent similar studies of CLARK (9), in 1921, gave similar results. CLARK found that the tuber-formation started at the end of the period of flower-bud development.

We owe classic investigations on the nature of tuber-formation to HUGO DE VRIES (41, 42) and VÖCHTING (37, 38, 39, 40). Among DE VRIES's most important results are the following conclusions (42, pp. 350, 352, 353). Every resting bud of a potato-plant may give rise either to a leaf-bearing stem or to a tuber-bearing stolo, depending on external circumstances. Circumstances which favor tuber-growth also favor the initiation of young tubers and these circumstances are obtained by an accumulation of food-substances in the neighbourhood of the buds.

DE VRIES's ideas agree well with those of GIRARD and CLARK, as mentioned above: It is evident that in the first stage of development of the aerial part of the plant all products from photosynthesis are used in building up new stems and leaves. After these have reached a certain development, their further growth is checked and the assimilated substances move downwards thru the stem where they accumulate and give rise to the formation of tubers.

Among VÖCHTING's work I mention especially his 1900-publication (39, pp. 81—83), where he discusses the possibility that tuber-formation is caused by specific tuber-forming substances. However, VÖCHTING favors the hypothesis that the concentration of the food-substances is the determining factor.

For completeness' sake I mention NOËL BERNARD's hypothesis (6) that tuber-formation is a consequence of the infestation of the roots with a fungus. This hypothesis is far from evident. If, for instance, we see that after storage at a high temperature premature tuber-formation may arise, while after storing at a low temperature no premature tuber-formation occurs, I do not see how we can explain these results by the action of fungi. BERNARD's experiments are inconclusive since he did not work in sterilized soil. JUMELLE (16), who verified BERNARD's hypothesis, obtained rather conflicting results and the work of MAGROU (22) is not very convincing either.

The normal tuber-formation may be modified and as instances of this modification I mention the following two cases.

Hastened normal tuber-formation was found by WELLENSIEK (44, p. 203) after sproutremoval of the mother-tuber which was not abundant enough for premature tuber-formation, but which nevertheless was thought to have caused some increase in the concentration of the food-substances. Consequently the concentration necessary for tuber-formation was reached earlier than without sproutremoval.

Second growth (Kindelbildung, Durchwachsen) is the formation of small tubers on newly formed tubers which are still in contact with the growing mother-plant. The new tubers may be formed immediately on the mother-tubers or on sprouts which have arisen from the mother-tubers. We deal with a case very well known among practical growers [cp. VAN LUYK (20), APPEL (4, Tafel 22 and 23), ANONYMOUS (2, p. 13 and fig. 9)]. It is ascribed to changes in the soil moisture-contents. A dry period makes the development of the growing tubers to stop. When a wet period follows, sprouts develop from the tubers and these are transformed into tubers when another dry period comes. We see that tuber-formation in this case corresponds to relatively high concentrations of the food-substances which arise when the quantity of water which is available to the plant, gets limited.

2. Aerial tuber-formation. — It may happen that small tubers are formed in the leaf-axils of growing plants. Since these tubers develop in the light, they take on a green color. Fig. 12 pictures this type of tuber-formation; before the photograph was taken, the leaves were cut away in ordor to show the aerial tubers clearly. As early as 1765 aerial tuber-formation was described by GLEDITSCH [cited by VÖCHTING (38, p. 102)]. Since then it has been mentioned many times in literature. DE VRIES (42, pp. 342—347) obtained it by injuring the stem or by ringing. VÖCHTING (37; 38, pp. 94—95; 39, pp. 109—110) brought forth aerial tuber-formation by several means, for instance by taking away the young tubers developing in the soil. APPEL (3, p. 394) observed it in plants attacked by black leg (*Bacillus phytophthorus*). Furthermore it is known to occur in plants which are infested by *Rhizoctonia Solani* [cp. VAN LUYK (20), O'BRIEN (7, p. 67 and plates XVIII and XIX), ANONYMOUS (1, p. 8 and plate VII, fig. 1)]. All these cases have in common that the transport of the food-substances to the subterranean parts of the plants is disturbed. This leads to an increase of the concentration in the aerial portions of the plants and tuber-formation is induced.

3. Tuber-formation during storage in the light. — When potato-tubers are stored in the light, the sprouts are sometimes transformed into tubers, especially when the temperature is high and when the duration of the storage-period is long (see fig. 13). DE VRIES (42, p. 340) obtained this type of tuber-formation in 1878. STUART GAGER (33, 34, 35) observed it accidentally on a piece of a potato tuber which was put on the soil of potted plants to protect these plants from snails and slugs. WELLENSIEK (44, p. 219) observed it under the above indicated circumstances. It is plausible to suppose that normal development of the sprouts is prevented due to lack of water and that this means an increase of concentration at the tops of the sprouts. Little as it may be, the photosynthesis has a tendency to increase this concentration directly. Therefore, this type of tuber-formation is evidently caused either by indirect or by direct increase of concentration or by both of them.

4. Tuber-formation during storage in the dark. — Under similar conditions as are favorable to the type of tuber-formation described sub 3, young tubers may be formed on sprouts of tubers which are stored in the dark (fig. 14). It was known to SCHACHT (29) in 1856. DE VRIES (42, p. 338) mentioned it in 1878, while also from the side of practical growers the type in question has drawn attention (cp. 2, p. 13 and fig. 8). The arising of young tubers in this case may be accounted for by indirect increase in the concentration, due to the loss of relatively much water during the rather long storage-period.

5. Tuber-formation on sprouts of tubers which are dried out artificially. — WELLENSIEK (44, p. 218—219) dried tubers above chloride of calcium and after planting observed the development of small young tubers (fig. 15). This can hardly be explained but by a similar reasoning as was held above: indirect increase in the concentration due to loss of water.

6. Premature tuber-formation after planting. („Submarines", „Sprout-tubers", „Little Potato", „Unterseeer", „Knöllchensucht").[1]) — This type of tuber-formation (fig. 16) was amply discussed in the preceding part of the present paper (pp. 5—7, 17—21). From a historical point

[1]) As to the German names see APPEL (5, Tafel 1).

of view it is interesting to note that SCHACHT (29), in 1856, observed premature tuber-formation after three sproutremovals. DE VRIES (42, p. 338) repeated this experiment, while VÖCHTING (40) in 1902 published results about the influence of external circumstances (temperature, moisture) on premature tuber-formation. WELLENSIEK (44, pp. 183—184) commented upon VÖCHTING's conclusions by drawing the attention to the fact that external circumstances as such cannot bring forth premature tuber-formation, but that a tendency for premature tuberization should have arisen during storage. In VÖCHTING's material this tendency was evidently always present, so that he overlooked this predisposition to the action of external circumstances. Consequently KÖHLER (17), in referring to WELLENSIFK's results, is not right in stating: „Der Verfasser.... gelangt zu folgenden Schlussen, die eine prinzipielle Bestätigung der Vöchtingschen Befunde bedeuten".

Recently DÖRING (10) obtained a type of tuber-formation in potatoes which is very similar to the premature tuber-formation in its appearance. It was induced by bringing chinolinum in the tubers. However, since evidently no checks were studied, the results are not absolutely convincing.

7. OORTWIJN BOTJES's case of tuber-formation. For completeness'sake this type of tuber-formation (figs. 4 and 8) is mentioned. We need not enter into further discussion of it now, since it was subject to discussion in the greater portion of the first part of the present paper. We might indicate this case as tuber-formation in plants growing in the dark under sproutremoval. However, the sproutremoval is not essential to it.

8. Tuber-formation inside the mother-tuber. — It sometimes happens that a young tuber is formed inside a mother-tuber. DE VRIES (42, p. 348) mentions an instance, while APPEL (5, Tafel 1) gives a picture of it, incorrectly indicating it as „Knöllchensucht". Little is known about its origin. I observed that a sprout moved inside the mother-tuber during its development, whereafter it was modified into a small tuber. It is possible that the present cases represent modifications of other types of tuber-formation mentioned above.

IV. THE PHYSIOLOGY OF TUBER-FORMATION IN THE POTATO.

Let us, in this final chapter, make an attempt to bring under one viewpoint the different types of tuber-formation which occur in the potato, as far as their mode of origin is concerned. After having discussed these different types separately in the preceding chapter, we can be rather short, for it is clear from the foregoing that all types of tuber-formation are induced by an increase of the concentration of the food-substances. However, this increase can be brought about by different means. There may be direct increase by the action of photosynthesis, there may be indirect increase due to the loss of water, there may be relative increase due to a deficiency of one of the food-substances. The relative increase of course, is also indirect, so that the latter two groups can be united in one („indirect increase") which is then sub-divided in two groups („absolute indirect increase" and „relative indirect increase"). In this way we arrive at the following scheme.

Tuber-formation arises when the concentration of the food-substances increases. This increase may be:

A. direct increase, due to the action of photosynthesis:

1. normal tuber-formation.
2. aerial tuber-formation.
3. tuber-formation during storage in the light.

B. indirect increase which may be:

α. absolute, due to loss of water:

3. tuber-formation during storage in the light.
4. tuber-formation during storage in the dark.
5. tuber-formation on dried tubers.
6. premature tuber-formation after planting.

β. relative, due to loss of one certain substance:

7. OORTWIJN BOTJES's case of tuber-formation.

It be remarked that type 3 of tuber-formation can be brought both in group A and in group B α. Furthermore no particular place in the above scheme can be given as yet to tuber-formation inside the mother-tuber, while DÖRING's case (cp. p. 25) also remains dark for

the present. I draw the attention to the fact that the physiology of tuber-formation is also the physiology of sprout-formation. Does not a bud develop either in a tuber or in a sprout? And are not the reverse circumstances as favor tuber-formation, favorable for sprout-formation? Hence decrease in the concentration of the food substances should induce sprout-formation. I mention two instances which clearly demonstrate this, namely the „second growth" (discussed on p. 23) and the sprout-formation which occurs after premature tuber-formation when the plants are allowed to take water from the soil (cp. p. 20).

As cited before (p. 22) DE VRIES was of opinion that accumulation of food-substances induced tuber-formation, while VÖCHTING indicated the determining factor as „concentration of the food-substances". My results are in harmony with DE VRIES and VÖCHTING; however, they widen the former viewpoints by distinguishing between direct and indirect increase and by distinguishing between absolute and relative indirect increase of concentration. It must remain to future investigations to determine which special substances are involved in the changes of the concentration. It must also remain to the future to decide whether the direct increase is absolute or relative or whether instances of both possibilities occur.

V. SUMMARY.

1. Potato-plants, growing in wet sand in the dark, form young tubers when the sprouts are constantly removed as soon as they appear above the sand. OORTWIJN BOTJES (23) ascribed the occurrence of tuber-formation in this case to a deficiency of albuminoids due to sprout-removal which means a relative increase of carbohydrates. In the present study this type of tuber-formation was especially investigated.

It was found that sproutremoval is not essential to the formation of tubers. Adding NH_4NO_3 to the plants increases the sprout-formation and delays the tuber-formation. Since tubers are formed anyhow, also when NH_4NO_3 is given in excess, no N-deficiency can account for the tuber-formation. It is supposed that deficiency of some undetermined substance causes relative increase in the concentration of other substances which induces tuber-formation.

2. Premature tuber-formation after planting is the formation of young tubers immediately after planting without any aerial development of the plants. In former studies (43, 44) it was hypothesized that

this type of tuber-formation is induced by an indirect increase of the concentration of food-substances due to loss of water during storage. Comparison of premature tuber-formation with OORTWIJN BOTJES's case of tuber-formation reveals that both types arise under entirely different circumstances, so that they cannot be ascribed to one and the same cause.

3. When the different types of tuber-formation which occur in the potato [(1) normal tuber-formation, (2) aerial tuber-formation, (3) tuber-formation during storage in the light, (4) tuber-formation during storage in the dark, (5) tuber-formation on dried mother-tubers, (6) premature tuber-formation after planting, (7) OORTWIJN BOTJES's case of tuber-formation] are compared as to their mode of origin, they all can be ascribed to an increase of the concentration of food-substances. However, this increase may be direct due to photosynthesis (above types 1, 2 and perhaps 3), indirect absolute due to loss of water (types 4, 5 and 6, probably also type 3), or indirect relative due to relative loss of a certain substance (type 7). The scheme on p. 26 summarizes this theory.

HOLLANDSE SAMENVATTING: DE PHYSIOLOGIE DER KNOLVORMING BIJ DE AARDAPPEL.

I. INLEIDING.

Betrekkelik zeer weinig onderzoekingen zijn verricht over de physiologiese natuur van de knolvorming bij de aardappel. Uitgaande van de studie van een geval van pathologiese knolvorming, de z.g. „onderzeeërvorming", is schrijver (43, 44) er vroeger toe gekomen verband te zoeken tussen dit tiepe van knolvorming en de normale knolvorming, voor zoover het de processen betreft, die aanleiding geven tot de vorming der knollen. Deze richting van onderzoek is thans uitgebreid, speciaal door de studie van een nieuw tiepe van knolvorming, beschreven door OORTWIJN BOTJES (23). Getracht is verder om de verschillende tiepen van knolvorming, die in de aardappel bekend zijn, onder één gezichtspunt te brengen met betrekking tot de wijze van hun ontstaan.

II. EIGEN ONDERZOEKINGEN.

§ 1. *Historiese ontwikkeling.* — Het vormen van enkele dochterknolletjes onmiddelik na het poten der moederknollen en zonder dat eenige bovengrondse ontwikkeling van de plant plaats heeft, is in de praktijk bekend onder de naam van „onderzeeërvorming". Deze ontijdige knolvorming is volgens WELLENSIEK (43, 44) een gevolg van de inwerking van bepaalde anorganiese invloeden tijdens de bewaring, welke resulteeren in een betrekkelik groot vochtverlies. Afspruiten werkt als vochtverlies en dientengevolge ontstaat na veel afspruiten een neiging voor onderzeeërvorming. Deze hypothese wordt vooral gesteund door (1) bepaling van het vochtgehalte in knollen en spruiten, (2) bepaling van de concentratie door middel van plasmolyse in spruiten van niet en wel afgesproten knollen, (3) kunstmatige uitdroging van knollen door middel van $CaCl_2$, hetgeen een neiging voor knolvorming opwekt. Door het vochtverlies ontstaat een verhooging

van de concentratie der opgeloste stoffen en deze verhooging voert tot knolvorming.

OORTWIJN BOTJES (23) plantte knollen in vochtig zand en nam de spruiten weg, zoodra ze boven het zand uitkwamen. Na eenigen tijd nam hij knolvorming waar, niettegenstaande de moederknollen volgezogen waren met water. Verondersteld werd, dat door het afspruiten een tekort was ontstaan aan eiwitachtige stoffen, waardoor de koolhydraten betrekkelik in hoeveelheid waren toegenomen, hetgeen tot knolvorming voerde.

Zooals in het volgende nog nader zal worden uiteengezet, zijn de omstandigheden, waaronder knolvorming optreedt in OORTWIJN BOTJES' geval en in het mijne, totaal verschillend. Er is dus geen reden om te veronderstellen, dat beide een zelfde oorzaak moeten hebben en dat OORTWIJN BOTJES dus aangetoond heeft, dat mijn hypothese onhoudbaar is (verg. 18; 21, pp. 241—242; 28, pp. 273—274; 10, p. 248). Een dergelijke verkeerde voorstelling van zaken wordt ongetwijfeld in de hand gewerkt door het gebruik van de naam „ontijdige knolvorming" voor beide gevallen. In tegenstelling met wat ik onlangs voorstelde (46) is het dus raadzaam alleen van „ontijdige knolvorming" te spreken in mijn geval en het andere tiepe van knolvorming eenvoudig aan te duiden als „OORTWIJN BOTJES' tiepe", waarin eigenlik het „ontijdige" element geheel ontbreekt.

§ 2. *Doel van het onderzoek.* — Getracht werd: (1) de omstandigheden nauwkeurig te bepalen, waaronder OORTWIJN BOTJES' tiepe van knolvorming optreedt, (2) zijn bovengenoemde hypothese te toetsen, (3) na te gaan in hoeverre er overeenkomst bestaat tussen OORTWIJN BOTJES' geval en de ontijdige knolvorming.

§ 3. *Materiaal en Methoden.* — Er werd gewerkt met gezonde knollen van het ras Schotse Muis. Deze werden geplant in vierkante bakken met gesteriliseerd zand, welke twee aan twee werden geplaatst in een zinken bak, waarin water of een oplossing van een N-verbinding werd gebracht (verg. fig. 2, 3, 5 en 6). Nagegaan werd n.l. in hoeverre toevoer van N-verbindingen de spruit- en de knolvorming zou beïnvloeden. Water en zoutoplossingen worden door de wortels opgenomen. Wortelvorming is dus noodig. Er bleek, dat een 2 % oplossing van NH_4NO_3 de wortelvorming sterk belemmert (fig. 1). Gewerkt werd daarom met 1 % NH_4NO_3 en dit werd eerst toegediend in overmaat nadat wortelvorming in zuiver water was voorafgegaan. De schadelike

invloed op wortelvorming van te veel N is bekend bij andere planten (11, 14, 19, 25, 26, 31, 32). Verder bleek, dat 1 % asparagine niet alleen de wortelvorming belemmerde, maar ook schadelik was voor de spruiten en de moederknollen (verg. fig. 5 en 6); deze stof werd dus uitgeschakeld voor het onderzoek. Door individueele wegingen van de moederknollen, van de spruiten en van de dochterknollen kon een idee worden gevormd omtrent de stoffelike veranderingen tijdens de ontwikkeling.

Bepalingen van het eiwitgehalte volgens KJELDAHL en van het totaal gehalte aan koolhydraten volgens EWERS werden verricht aan het Station voor Veevoederonderzoek. Een woord van hartelike dank zij hier gebracht aan Dr. B. R. DE BRUYN en Dr. G. B. PEPPELMAN VAN KAMPEN voor hun welwillende medewerking.

§ 4. *Beschrijving der proeven en konklusies.* — In een aantal proefreeksen werd volgens de boven kort aangegeven werkwijze het tiepe van knolvorming van OORTWIJN BOTJES bestudeerd. Volgende resultaten werden verkregen:

1. Uitpoten in vochtig zand en wegnemen van de spruiten resulteert in een totaal hoeveelheid nieuw gevormde stof, welke 102,62 ± 1,76 % van het oorspronkelik gewicht der moederknollen bedraagt. Meer dan 112,36 ± 2,00 % van het oorspronkelik moederknolgewicht is in den vorm van water opgenomen (verg. de figuren 2, 3 en 4).

2. NH_4NO_3 heeft de neiging om de hoeveelheid spruiten te vergrooten en om de knolvorming te vertragen. Fig. 7 demonstreert deze werking. Fig. 8 en 9 geven individueele gevallen weer, resp. ontwikkeld in zand met water en in zand met NH_4NO_3; in het laatste geval is er neiging bij de dochterknolletjes om aan hun top een spruit te doen ontwikkelen.

3. Afspruiten is geen noodzakelike voorwaarde voor het optreden van dochterknolletjes. Ook wanneer men de spruiten rustig in het donker laat voortgroeien treedt vorming der dochter-knolletjes op. Ook in dit geval bevordert NH_4NO_3 de spruitvorming en vertraagt het de knolvorming.

4. NH_4NO_3 heeft geen invloed bij 15°, terwijl het bij 22° een sterke invloed heeft. Mogelik is bij 15° de wortelvorming niet krachtig genoeg geweest of de wortel-werking belemmerd.

5. Bij planten, die in het licht groeien, bewerkt NH_4NO_3 het ontstaan van veel dochterknolletjes, welke echter zeer klein blijven, vergeleken met planten, welke in zand met water groeien. De tiepen

van knolvorming in deze beide gevallen zijn afgebeeld in fig. 10, terwijl een vergelijking der opbrengsten mogelik wordt gemaakt door fig. 11.

6. Chemiese analyses toonen aan, dat voor de vorming der spruiten en dochterknolletjes omstreeks 73 % van de droge stof, 38 % van de eiwitachtige stoffen en 76 % van de koolhydraten der moederknol verbruikt zijn. Toevoer van NH_4NO_3 resulteert in een aanmerkelik grooter gehalte aan eiwitachtige stoffen, zoowel in de moederknollen als in de dochterknollen.

7. Er blijkt dus, met betrekking tot OORTWIJN BOTJES' hypothese, dat NH_4NO_3 wel knolvorming tijdelik vertraagt, doch deze niet absoluut verhindert. Te kort aan N-verbindingen kan dus niet aansprakelik worden gesteld voor de knolvorming. Doch een modificatie van OORTWIJN BOTJES' idee is zeer wel mogelik in dezen zin, dat een niet nader bekende stof, welke noodzakelik voor spruitvorming is, verbruikt raakt, waardoor verdere spruitvorming uitgesloten wordt. De andere stoffen nemen dan echter betrekkelik in concentratie toe en dit voert tot knolvorming.

De proeven, welke werden genomen over de invloed van NH_4NO_3 op eerste spruit, tweede spruit .... vijfde spruit — ten einde na te gaan in hoeverre door afspruiten een betrekkelik tekort aan N-verbindingen ontstaat — hebben geen bevredigende resultaten gegeven, vermoedelik vooral doordat de proeven werden genomen bij 15°. Het was toen nog niet bekend, dat NH_4NO_3 bij deze temperatuur in den regel niet effektief is. Door verandering van werkkring moet het onderhavige onderzoek echter worden afgesloten en is het niet mogelik nieuwe onderzoekingen over deze kwestie in te zetten. Echter is één belangrijk verschilpunt tusschen OORTWIJN BOTJES' tiepe en de ontijdige knolvorming wederom duidelik gebleken. In het eerste geval daalt het droge-stofgehalte der moederknollen aanzienlik tijdens de ontwikkeling, in het tweede geval ontstaat de neiging door ontijdige knolvorming onder een niet onaanzienlike betrekkelike toeneming van het gehalte aan droge stof. Dit maakt het aannemelik, dat hier knolvorming optreedt door een indierekte toename der concentratie als gevolg van wateronttrekking. Verder pleit het „doorgroeien" van eenmaal gevormde onderzeeërs in zuiver zand met water tegen de opvatting, dat N-tekort de knolvorming heeft teweeggebracht. Hier wordt immers niets anders dan water toegevoerd.

Het een met het ander maakt het geenszins noodig mijn vroegere theorie omtrent het wezen der ontijdige knolvorming te wijzigen.

III. DE VERSCHILLENDE TIEPEN VAN KNOLVORMING, WELKE BIJ DE AARDAPPEL BEKEND ZIJN.

In de litteratuur zijn de volgende tiepen van knolvorming beschreven:

(1) Normale knolvorming, optredende na een bepaalde bovengrondse ontwikkeling der plant (verg. fig. 10, links). HUGO DE VRIES (41, 42) en VÖCHTING (37, 38, 39, 40) verrichtten klassieke onderzoekingen over dit tiepe. Volgens DE VRIES kan uit iedere knop van een aardappelplant een bebladerde stengel of een knol groeien, hetgeen afhangt van uitwendige omstandigheden. Groeivoorwaarden, gunstig voor groei der knollen, bevorderen ook hun eerste ontwikkeling en deze voorwaarden bestaan uit een ophooping van voedingsstoffen in de nabijheid der knoppen. VÖCHTING (39, pp. 81—83) bespreekt de mogelikheid, dat er speciale knolvormende stoffen bestaan, maar verwerpt dit idee en spreekt dan van een „concentratie der voedingsstoffen", welke de knolvorming bepaalt. Verdere litteratuur: 6, 9, 12, 16, 22.

Modificaties der normale knolvorming zijn de vervroegde normale knolvorming, [WELLENSIEK (44, p. 203)], welke optreedt aan planten, gegroeid uit afgesproten knollen, wanneer de afspruiting echter niet intens genoeg is geweest voor onderzeeërvorming. Verder het „doorgroeien", welbekend bij practici, en optredende wanneer droge en vochtige perioden tijdens de ontwikkeling der knollen afwisselen. Droogte beteekent hier concentratievermeerdering en knolvorming, vocht beteekent concentratievermindering en spruitvorming. Litteratuur over droorgroeien: 2, 4, 20.

(2) Bovengrondse knolvorming (fig. 12) ontstaat wanneer door een of andere oorzaak (verwonding der stengels, ringen, wegnemen der dochterknollen, zwartbeenigheid, Rhizoctonia) het vervoer der assimilaten naar het ondergrondse deel der plant onmogelik wordt gemaakt. Ophooping van voedingsstoffen is dus als oorzaak aan te zien. Litteratuur: 1, 3, 7, 20, 37, 38, 39, 42.

(3) Knolvorming tijdens bewaring in het licht ontstaat wanneer de bewaring lang duurt en/of bij hooge temperatuur geschiedt (fig. 13). We kunnen ons voorstellen, dat òf door veel vochtverlies òf door assimilatie, misschien wel door beide, concentratievermeerdering in de spruit ontstaat, welke tot knolvorming voert. Litteratuur: 33, 34, 35, 42, 44.

(5) Knolvorming tijdens bewaring in het donker treedt eveneens op, wanneer de bewaring lang duurt en/of bij hooge temperatuur plaats vindt (fig. 14). Vochtverlies bewerkt hier klaarblijkelik concentratieverhooging. Litteratuur: 2, 29, 42, 44.

(5) Knolvorming na kunstmatige uitdroging is door WELLENSIEK (44, pp. 218—219) verkregen. Verg. fig. 15.

(6) Ontijdige knolvorming na het planten (fig. 16) is in het bovenstaande reeds besproken. Litteratuur: 5, 10, 17, 29, 40, 42, 43, 44.

(7) OORTWIJN BOTJES' tiepe van knolvorming (fig. 4 en 8) is eveneens reeds uitvoerig besproken.

(8) Vorming van dochterknollen in de moederknol komt soms voor en moet misschien beschouwd worden als een speciaal geval van een der eerder genoemde tiepen. Litteratuur: 5, 42.

IV. DE PHYSIOLOGIE DER KNOLVORMING IN DE AARDAPPEL.

Wanneer de wijzen van ontstaan der bovengenoemde tiepen van knolvorming met elkaar worden vergeleken, blijkt, dat in alle gevallen verhooging van de concentratie der voedingsstoffen aansprakelik kan worden gesteld. Er is echter naast een dierekte verhooging door de assimilatie ook een indierekte verhooging mogelik en deze kan weer absoluut zijn tengevolge van wateronttrekking of relatief doordat een bepaalde stof verbruikt wordt, waardoor dan de andere stoffen in relatieve concentratie toenemen. Wij hebben dus het volgende:

Knolvorming ontstaat wanneer de concentratie der voedingsstoffen toeneemt. Deze toename kan zijn:

A. dierekt, door de assimilatie:
   1. normale knolvorming.
   2. bovengrondse knolvorming.
   3. knolvorming tijdens bewaring in het licht.

B. indierekt en wel:
   α. absoluut, door verlies van water:
      3. knolvorming tijdens bewaring in het licht.
      4. knolvorming tijdens bewaring in het donker.
      5. knolvorming aan kunstmatig uitgedroogde knollen.
      6. ontijdige knolvorming na het planten.
   β. relatief, door het verbruik van een bepaalde stof:
      7. OORTWIJN BOTJES' tiepe van knolvorming.

Wij zien, dat in dit schema tiepe 3 tweemaal vertegenwoordigd is, terwijl tiepe 8 voorloopig niet zonder meer kon worden ondergebracht.

Bovenstaande theorie sluit zich dus aan bij de theorieën van DE VRIES en VÖCHTING, verruimt deze echter door onderscheid te maken tussen dierekte en indierekte concentratieverhooging en tussen absolute en relatieve indierekte verhooging.

WAGENINGEN, November 7, 1929.

LITERATURE CITED.

(1) ANONYMOUS: Aardappelziekten, waarmede rekening moet worden gehouden bij de veldkeuring en bij de selectie. (Versl. en Med. Plantenziektenk. Dienst N°. 6, 1928, 24 p.)

(2) ANONYMOUS: Ziekten van aardappelknollen. (Versl. en Med. Plantenziektenk. Dienst N°. 9, 1929, 20 p.)

(3) APPEL, OTTO: Untersuchungen über die Schwarzbeinigkeit und die durch Bakterien hervorgerufene Knollenfäule der Kartoffel. (Arb. Biol. Abt. Land u Forstw. am Kaiserl. Gesundh. ambte **3**, 1903: 264—432.)

(4) APPEL, OTTO: Taschenatlas der Kartoffelkrankheiten I, Knollenkrankheiten. Berlin, Paul Parey, 1925, 24 Tafeln.

(5) APPEL, OTTO: Kartoffelkrankheiten II: Staudenkrankheiten. Berlin, Paul Parey, 1926, 20 Tafeln.

(6) BERNARD, NOËL: Études sur la tubérisation. (Rev. gen. Bot. **14**, 1902: 5—25, 58—71, 101—119, 139—154, 170—183, 269—279.)

(7) BRIEN, D. G. O': A common disease of potatoes viz., stem rot, rosette or little potato. (West of Scotland Agric. Coll. Bull. **94**, 1919: 59—72.)

(8) BRUYN, HELENA L. G. DE: Het blauw worden van aardappelen. With English summary. (Tijdschr. Plantenziekten **35**, 1929: 185—222.)

(9) CLARK, CHARLES F.: Development of tubers in the potato. (U. S. D. A. Bull. **958**, 1921: 27 p.)

(10) DÖRING, HERMANN: Zur Kenntnis der Knöllchensucht. (Angew. Botanik **11**, 1929: 246—267.)

(11) GERICKE, W. F.: Certain relations between root development and tillering in wheat: Significance in the production of high-protein wheat. (Amer. J. Bot. **9**, 1922: 366—369.)

(12) GIRARD, AIMÉ: Recherches sur la culture de la pomme de terre industrielle et fouragère. Paris, Gauthier-Villars, 1900, IX + 267 p.

(13) GRÜNTUCH, R.: Untersuchungen über den N-Stoffwechsel unterirdischer Reservestoffbehälter (Unter besonderer Berücksichtigung der Kartoffelknolle). (Planta **7**, 1929: 388—421.)

(14) HICKS, PHYLLIS A.: Chemistry of growth as represented by carbon/nitrogen ratio. Regeneration of willow cuttings. (Bot. Gaz. **86**, 1928: 193—209.)

(15) JANSSEN, J. J.: Invloed der bemesting op de gezondheid van de aardappel. With German summary. (Tijdschr. Plantenziekten **35**, 1929: 119—151.)

(16) JUMELLE, HENRI: De l'influence des endophytes sur la tubérisation des Solanum. (Rev. gen. Bot. **17**, 1905: 49—59.)

(17) KÖHLER: Ref. of N°. 43 of the present list. (Nachrichtenbl. D. Pflanzenschutzdienst **3**, 1923: 78.)

(18) KÖHLER, E.: Ref. of N°. 23 of the present list. (Bot. Centr. bl. **10**, 1927: 75.)

(19) KRAUS, E. J. and H. R. KRAYBILL: Vegetation and reproduction with special reference to the tomato (Oregon Agr. Coll. Exp. Sta. Bull. **149**, 1918: 90 p.)

(20) LUYK, A. VAN: Bovengrondsche knolvorming bij aardappels. (De Veldbode **10**, 1912: 716—717.)

(21) Mc. INTOSH, THOMAS P.: The potato, its history, varieties, culture and diseases. Edinburgh and London, Oliver and Boyd, 1927, XVI + 264 p.

(22) MAGROU, J.: Symbiose et tubérisation chez la pomme de terre. (C. R. Acad. Sc. **158**, 1914: 50—53.)

(23) OORTWIJN BOTJES, J. G.: Ontijdige knolvorming bij aardappelen. With English summary. (Tijdschr. Plantenziekten **33**, 1927: 1—13.)

(24) OORTWIJN BOTJES, J.: Droge bewaring en onderzeeërvorming bij aardappelen. (Tijdschr. Plantenziekten **35**, 1929: 108—111.)

(25) REID, MARY ELISABETH: Relation of kind of food reserves to regeneration in tomato plants. (Bot. Gaz. **77**, 1924: 103—110.)

(26) REID, MARY ELISABETH: Quantitative relations of carbohydrates to nitrogen in determining growth responses in tomato cuttings. (Bot. Gaz. **77**, 1924: 404—418.)

(27) REID, MARY E.: Growth of tomato cuttings in relation to stored carbohydrate and nitrogenous compounds. (Amer. J. Bot. **13**, 1926: 548—574.)

(28) REMY, TH.: Handbuch des Kartoffelbaues. Berlin, Paul Parey, 1928, 312 p.

(29) SCHACHT, HERMANN: Bericht über die Kartoffelpflanze und deren Krankheiten. Berlin, 1856, 30 p.

(30) SCHLUMBERGER, OTTO: Über einen eigenartigen Fall abnormer Wurzelbildung an Kartoffelknollen. (Ber. D. Bot. Ges. **31**, 1913: 60—63.)

(31) SCHRADER, A. L.: The relation of chemical composition to the regeneration of roots and tops on tomato cuttings. (Proc. Amer. Soc. Hort. Sc. **21**, 1924: 187—194.)

(32) STARRING, C. C.: Influence of the carbohydrate-nitrate content of cuttings upon the production of roots. (Proc. Amer. Soc. Hort. Sc. **20**, 1923: 288—292.)

(33) STUART GAGER, C.: Tuber-formation in Solanum tuberosum in daylight. (Torreya **6**, 1906: 181—186.)

(34) STUART GAGER, C.: Further note on the formation of earial tubers in Solanum. (Terreya **6**, 1906: 211—212.)

(35) STUART GAGER, C.: Remarks on the formation of aerial tubers in Solanum tuberosum. (Torreya **6**, 1906: 255—256.)

(36) SUZUKI M.: On the formation of asparagine in plants under different conditions. (Bull. Coll. Agric. Tokyo Imp. Univ. **2**, 1894—'97: 409—457.)

(37) VÖCHTING, HERMANN: Ueber die Bildung der Knollen. (Bibliotheca Botanica N°. 4, 1887: 55 p.)

(38) VÖCHTING, HERMANN: Zu T. A. Knight's Versuchen über Knollenbildung. (Bot. Ztg. **53**, 1895: 79—106.)

(39) VÖCHTING, HERMANN: Zur Physiologie der Knollengewächse. (Jahrb. wiss. Bot. **34**, 1900: 1—148.)

(40) VÖCHTING, HERMANN: Ueber die Keimung der Kartoffelknollen. (Bot. Ztg. **60**, 1902: 87—114.)

(41) VRIES, HUGO DE: Beitraege zur speciellen Physiologie landwirtschaftlicher Kulturpflanzen IV. Keimungsgeschichte der Kartoffeiknollen.
(Opera e periodicis collata III: 200—246; reprint from Landw. Jahrb. 7, 1878: 217—249.)

(42) VRIES, HUGO DE: Beitraege zur speciellen Physiologie landwirtschaftlicher Kulturpflanzen V. Wachtstumsgeschichte der Kartoffelpflanzen.
(Opera e periodicis collata III: 247—376; reprint from Landw. Jahrb. **7**, 1878: 591—682.)

(43) WELLENSIEK, S. J.: Ontijdige knolvorming bij vroege aardappels. With German summary. (Meded. Landbouwhoogeschool **27**, N°. 3, 1923: 24 p.)

(44) WELLENSIEK, S. J.: Een onderzoek naar de faktoren, die ontijdige knolvorming bij vroege aardappels bepalen. (Tijdschr. Plantenziekten **30**, 1924: 177—226). German summary in: Die Kartoffel 1925.

(45) WELLENSIEK, S. J.: De invloed van luchtvochtigheid op pootaardappelen tijdens de bewaring. With English summary. (Tijdschr. Plantenziekten **35**, 1929: 13—24.)

(46) WELLENSIEK, S. J.: Een antwoord aan J. Oortwijn Botjes en een advies aan de praktijk inzake droge of vochtige bewaring van aardappels. With English summary. (Tijdschr. Plantenziekten **35**, 1929: 234—236.)

(47) WELLENSIEK, S. J.: De vervanging van zonlicht door kunstlicht bij pootaardappelbewaring. With English summary. (Tijdschr. Plantenziekten **35**, 1929: 241—250.)

EXPLANATION OF FIGURES.

VERKLARING DER FIGUREN.

Fig. 1. Difference in the root-formation of plants growing in sand with water (left) or in sand with 2 % NH_4NO_3 (right).
Verschil in de wortelvorming bij planten, welke in zand met niets dan water groeien (links) of in zand met 2% NH_4NO_3 (rechts).

Fig. 2. Potatoes starting to sprout in wet sand.
Aardappels, die in vochtig zand beginnen te spruiten.

Fig. 3. Same sets as in fig. 2 after frequent sproutremoval; tuber-formation occurs instead of sprout-formation.
Dezelfde partijen als in fig. 2 na eenige malen verwijderen der spruiten; knolvorming treedt op in plaats van spruit-vorming.

Fig. 4. Type of tuber-formation as occurring in fig. 3 („OORTWIJN BOTJES' type").
Het tiepe van knolvorming, zooals dit in fig. 3 voorkomt („OORTWIJN BOTJES' tiepe").

Fig. 5 Three sets of potatoes growing in:

- *a.* sand with water
- *b.* sand with 1 % NH_4NO_3
- *c.* sand with 1 % asparagine.

Drie partijen aardappels welke resp. groeien in:

- *a.* zand met water
- *b.* zand met 1 % NH_4NO_3
- *c.* zand met 1 % asparagine.

Fig. 6. Same sets as in fig. 5 at the end of the experiment; *a*, *b* and *c* as in fig. 5.
Dezelfde partijen als in fig. 5, bij het einde der proef; *a*. *b* en *c* als in fig. 5.

Fig. 7. Top-row: Tubers developed in sand with water under sproutremoval.
Bottom-row: Tubers developed in sand with 1 % NH_4NO_3 under sproutremoval.
Bovenste rij: Knollen gegroeid in zand met water onder afspruiting.
Onderste rij: Knollen gegroeid in zand met 1 % NH_4NO_3 onder afspruiting.

Fig. 8. Type of tuber-formation as in the top-row of fig. 7.
Tiepe van knolvorming als in fig. 7, bovenste rij.

Fig. 9. Type of tuber-formation as in the bottom-row of fig. 7. Note the sprouts developing on top of the young tubers.
Tiepe van knolvorming als in fig. 7, onderste rij. Men lette op de spruitvorming aan de top der jonge knolletjes.

Fig. 10. Tuber-formation of plants grown in the light in:

a. sand with water.
b. sand with 1 % NH_4NO_3.

Knolvorming bij planten, welke in het licht groeien in:

a. zand met water.
b. zand met 1 % NH_4NO_3.

Fig. 11. The yield of 10 plants grown in the light in:

a. sand with water.
b. sand with 1 % NH_4NO_3.

De opbrengst van 10 planten, welke gegroeid zijn in het licht in:

a. zand met water.
b. zand met 1 % NH_4NO_3.

Fig. 12. Aerial tuber-formation.
Bovengrondse knolvorming.

Fig. 13. Tuber-formation during long storage in the light.
Knolvorming tijdens langdurige bewaring in het licht.

Fig. 14. Tuber-formation during long storage in the dark.
Knolvorming tijdens langdurige bewaring in het donker.

Fig. 15. Tuber-formation after artificially drying out of mother-tubers.
Knolvorming na kunstmatige uitdroging der moederknollen.

Fig. 16. Premature tuber-formation after planting.
Ontijdige knolvorming na het poten.

N.B. Figs. 14, 15 and 16 also occur in my 1924-publication (44) and are given here for completeness' sake.
De figuren 14, 15 en 16 komen ook voor in mijn publicatie van 1924 (44) en worden hier ter wille van de volledigheid afgedrukt.



Fig. 1.

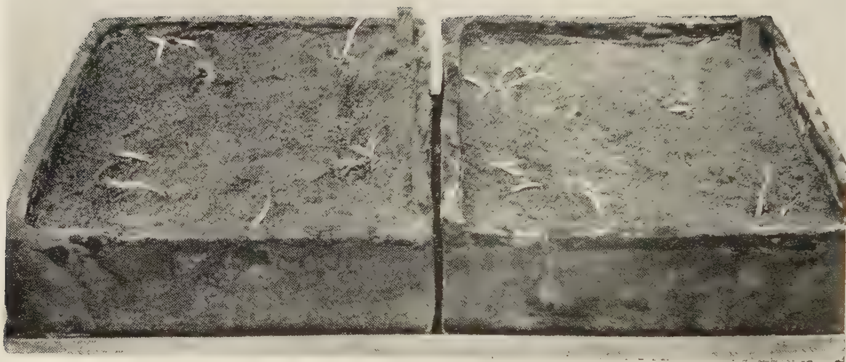


Fig. 2.



Fig. 3.

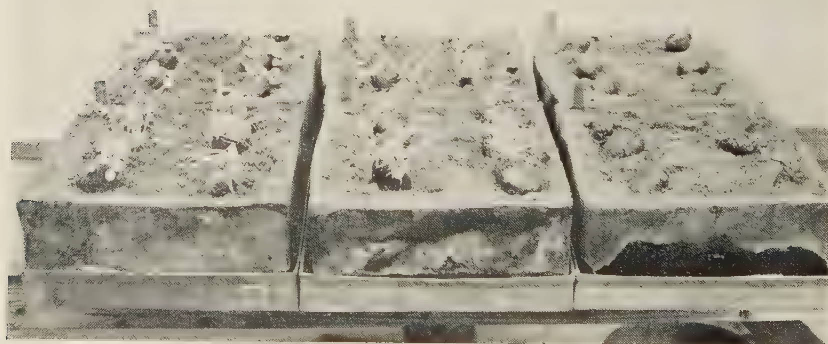


Fig. 4



a *b* *c*

Fig. 5.



a *b* *c*

Fig. 6



Fig. 7.

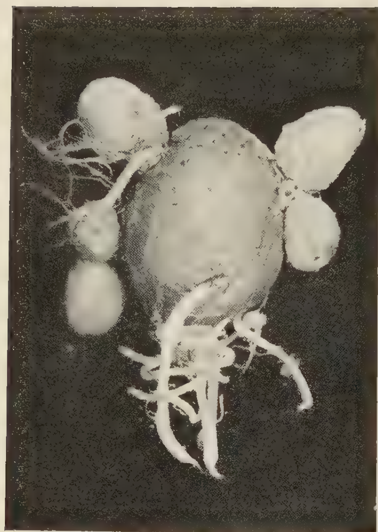


Fig. 8.



Fig. 9.



a *b*

Fig. 10.

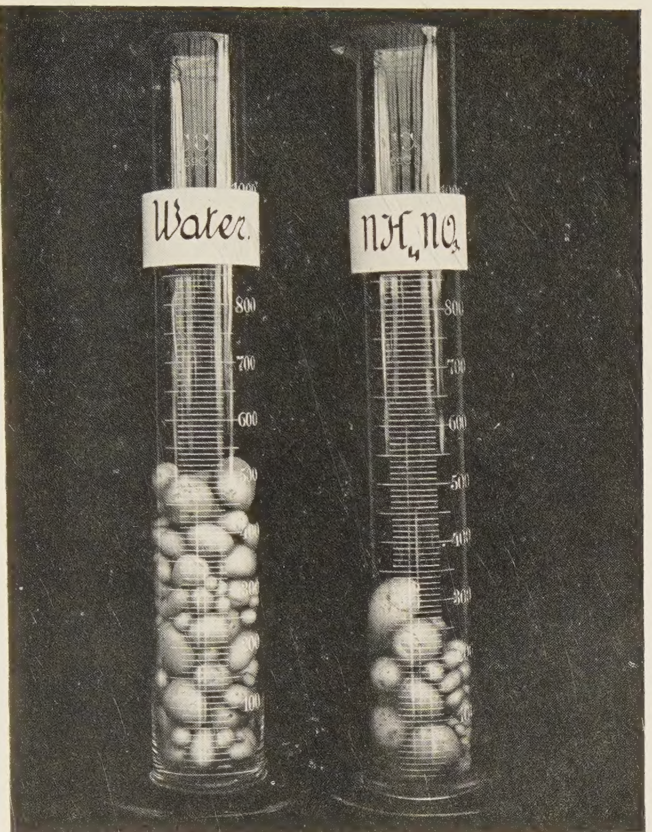


Fig. 11.



Fig. 12.



Fig. 13.



Fig. 14.

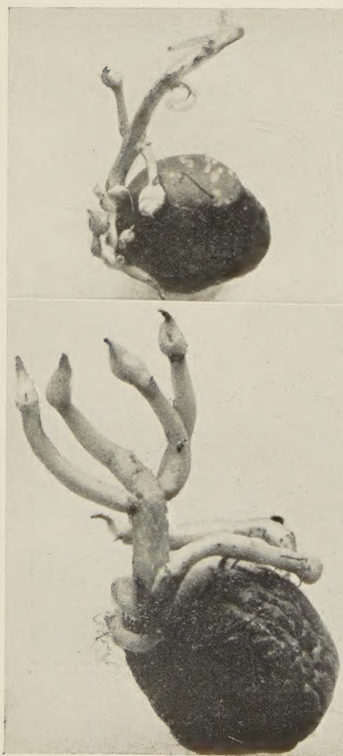


Fig. 15.

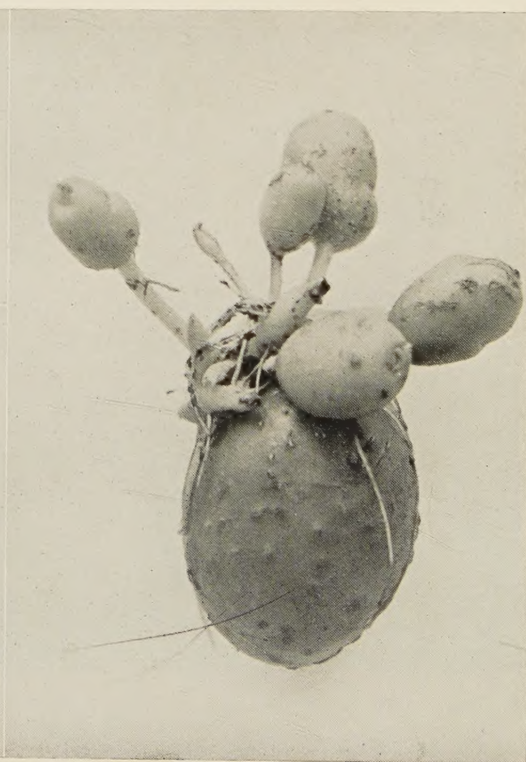


Fig. 16.